

Zur Wirkung ödemprotektiver Substanzen
auf das Etacrynsäureödem am Hinterlauf
der narkotisierten Katze

Gabriel Schmidt

Liss
München
1925



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. Wolfgang Forth

Zur Wirkung ödemprotektiver Substanzen
auf das Etacrynsäureödem
am Hinterlauf der narkotisierten Katze

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gabriel Schmidt

aus
München

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter Prof. Dr.med. Wolfgang Felix

Mitberichterstatter: Prof. Dr.med. Wolfgang Forth

Dekan: Prof. Dr.med. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 27.6.1985

Meinen Eltern in Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Methodik	4
2.1. Präparation	5
2.2. Perfusion	6
2.3. Flüssigkeits- und Eiweißgehalt	12
2.4. Meßgrößen	14
2.5. Statistische Berechnungen	17
3. Diskussion der Methodik	18
4. Verwendete Substanzen	22
5. Ergebnisse	28
5.1. Kontrollversuche	28
5.2. TMHC (Tri-Methyl-Hesperidin-Chalkon)	33
5.2.1. Intravenöse Anwendung	33
5.2.2. Orale Anwendung	38
5.3. O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside (HR)	41
5.3.1. Intravenöse Anwendung	41
5.3.2. Orale Anwendung	41
5.4. Ruscogenin	48
5.4.1. Intravenöse Anwendung	48
5.4.2. Orale Anwendung	48

5.5.	Di-O-Diphenylmethylen 3', 4' (+)-catechin (GCP-52)	52
5.5.1.	Intravenöse Anwendung	52
5.5.2.	Orale Anwendung	52
5.6.	Clobenosid	55
5.7.	Dosis-Wirkungs-Vergleich der ödemprotektiven Pharmaka	57
6.	Diskussion	62
7.	Zusammenfassung	87
8.	Literaturverzeichnis	89

Lebenslauf

1. Einleitung

Ein Pharmakon, das gut wasserlöslich und schlecht fettlöslich ist, kann bei oraler Anwendung keine wirksame Konzentration erreichen. Zu dieser Feststellung muß man aufgrund pharmakokinetischer Überlegungen kommen. Denn nach den Grundlagen der Pharmakokinetik kann eine fettunlösliche Substanz die Magen/Darm-Mucosa nicht durchdringen. Damit gelangt nach der Theorie eine wasserlösliche, aber fettunlösliche Substanz nach peroraler Gabe nicht in wirksamer Konzentration in den Organismus. Eine Ausnahme wäre gegeben, wenn ihr ein aktiver Transportmechanismus helfen würde, diese Schranke zu überwinden. Bei wasserlöslichen Pharmaka, die zudem ein Molekulargewicht von >400 besitzen, gelangt ein kleiner Teil, der absorbiert wird, in den enterohepatischen Kreislauf. Der Hauptanteil jedoch kommt in den großen Kreislauf und wird aufgrund der guten Wasserlöslichkeit schnell über die Niere ausgeschieden.

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside (HR), der Venoruton^R-Wirkstoff, zeigen eine sehr gute Wasserlöslichkeit, lösen sich jedoch praktisch nicht in Fett. Sie besitzen ein mittleres Molekulargewicht von >750 und nach intravenöser Injektion eine Plasmahalbwertszeit von einer halben Stunde. Damit bieten sie alle Voraussetzungen, die eine Wirksamkeit bei peroraler Applikation ausschließen lassen.

Im Widerspruch zu dieser Theorie stehen tierexperimentelle Untersuchungen. Förster(1978) fand beim Meerschweinchen und anderen Pflanzenfressern eine Absorptionsrate von 4-10 % nach oraler Applikation. Hierzu wäre der Einwand gerechtfertigt, daß die Absorption im Magen/Darm-Trakt bei Pflanzenfressern, wie den Meerschweinchen, nicht mit der beim Menschen verglichen werden darf. In frühe-

ren Versuchen konnte Felix (1978) bei 50 mg HR/kg KG i.v. eine protektiv antiödematöse Wirkung nachweisen. Geht man von einer 10 %-igen Absorption aus, müßten oral 500 mg/kg KG gegeben werden. Bei gleicher Absorptionsquote beim Menschen, ergäben sich etwa 35 g. Dabei muß jedoch bedacht werden, daß im Tierversuch plötzlich ein experimentelles Ödem erzeugt wird. Diese starke Schädigung benötigt natürlich auch hohe Dosen der Pharmaka zur Hemmung. Bei der sich langsam ausbildenden chronischen Veneninsuffizienz des Menschen dürften wohl niedrigere Dosen ausreichen.

In verschiedenen Doppelblindstudien von Bergqvist und Forconi (1981) ließ sich ein antiödematöser Effekt bei Dosen von 0,5 - 1,5 g/Tag nachweisen. Diese Ergebnisse zeigen, daß Wasserlöslichkeit, Fettunlöslichkeit und großes Molekulargewicht die Pharmakokinetik der Hydroxyethylrutoside nicht ausreichend darstellen. Ritschel und Kaul (1981) fanden eine zweite Halbwertszeit von ca. 20 Stunden für Trihydroxyethylrutosid. Dies erlaubt die Folgerung, daß der für die Wirkung verantwortliche Teil sehr viel länger im Gewebe bleibt. Unterstellt man diese Halbwertszeit auch für Mono-, Di- und Tetrahydroxyethylrutoside, wäre bei 10 %-iger Absorption ebenfalls nach oraler Applikation eine Wirkung zu erwarten. Daher entschlossen wir uns zur tierexperimentellen Prüfung.

Zum Dosis-Wirkungs-Vergleich wurden Versuche mit dem ebenfalls sehr gut wasser-, aber nicht fettlöslichen Trimeethyl-Hesperidin-Chalkon (TMHC) durchgeführt. TMHC gehört seit Jahren als Bestandteil verschiedener Medikamente zur Therapie der chronischen Veneninsuffizienz. Untersuchungen von Kappenberg (1972) und Seidenberger (1974) zeigten die gute Wirksamkeit nach oraler Gabe von TMHC. Ferner stellten verschiedene tierexperimentelle Untersuchungen die orale Absorption von TMHC unter Beweis. Damit konnte ein Vergleich als sinnvoll angesehen werden.

Den beiden wasserlöslichen Substanzen stellten wir noch drei weitere fettlösliche Pharmaka gegenüber, um auch mit ihnen einen Dosis-Wirkungs-Vergleich durchzuführen. Wir wählten dafür Ruscogenin, einen Hauptwirkstoff des Ruscusextraktes, der, auch in Verbindung mit TMHC, Bestandteil verschiedener Medikamente zur Behandlung der chronischen Veneninsuffizienz ist. Klinische Untersuchungen (Seidenberger 1974 u.a.) sprechen auch bei Ruscogenin für eine gute orale Absorption und Wirksamkeit.

Neben diesen bereits eingeführten Wirkstoffen, wählten wir zwei synthetische Stoffe der Fa. Zyma-München, nämlich das Glucofuranosid Clobenosid und das Katechinderivat GCP-52. Diese beiden Stoffe zeigten beim entzündlichen Ödem bereits ödemprotektive Wirkungen. Weiterhin stellte sich die Frage nach der Unspezifität des protektiven Effekts der Versuchsspharmaka. Unspezifisch kann die Wirkung in Bezug auf die Schädigung oder die zu schützende Struktur sein. Alle unsere Versuchssubstanzen wurden der Prüfung am entzündlichen Ödem unterzogen. Pharmaka mit unspezifisch ödemprotektiver Wirkung sollten auch bei nicht entzündlichen Prozessen, die zum Endothelschaden führen, schützend wirken. Um eine alleinige antiphlogistische Wirkung auszuschließen, verwendeten wir ein Mittel, von dem wir annahmen, daß es keine Entzündungen hervorruft. Dazu eignet sich das Diureticum Etacrynsäure (Hydromedin^R). Hammersen (1983) hat in morphologischen Untersuchungen inzwischen nachgewiesen, daß Etacrynsäure die Endothelien nicht über eine entzündliche Reaktion, sondern direkt schädigt. Wir gaben Etacrynsäure intravasal am Hinterlauf der narkotisierten Katze, um einen Endothelschaden zu erzeugen.

2. Methodik

Die Versuche wurden an 92 Katzen beiderlei Geschlechts bei einem mittleren Gewicht von $2,5 \pm 0,5$ kg durchgeführt. Die Tiere wurden mit 60 mg Chloralose/kg KG peroral narkotisiert (Balis 1964), wobei die Chloralose in warmem Wasser gelöst und mit einer Sonde in den Magen appliziert wurde. Nach 1-1,5 Stunden war die Narkose ausreichend tief. Sie hielt während der gesamten Versuchszeit an, die ca. 7-8 Stunden benötigte, ohne daß das Narkotikum erneut gegeben werden mußte. Bei den oralen Versuchen wurde vor der Chloralose das entsprechende Pharmakon über die Magensonde appliziert. Dies entsprach einer Vorbehandlungszeit von 4 Stunden bis zur Schädigung mit Etacrynsäure.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde Katzen 4 Tage lang HR einmal pro Tag in einer Dosis von 20 mg/kg KG oral gegeben. Im Gegensatz zu den oralen Gaben per Magensonde bei den akuten Versuchen, erhielten die Tiere bei dieser Versuchsreihe HR ungelöst in Pulverform. Um eine sichere Einnahme von HR zu gewährleisten, gingen wir folgendermaßen vor: Nach Bestimmung des Tiergewichts, wurde HR in einem trockenen Becherglas in einer Menge von 20 mg/kg KG eingewogen. Diese Menge an HR erhielten die Tiere morgens vor der ersten Fütterung auf die Zunge geschüttet. HR wurde ohne Schwierigkeiten geschluckt. Danach erhielten die Tiere die gewohnte Fleisch-Katzennahrung, die sofort aufgenommen wurde. Nur bei einem Tier stellten wir am 2. Vorbehandlungstag ein Erbrechen fest. Dieses Tier wurde selbstverständlich sofort aus der Versuchsreihe herausgenommen.

Am fünften Tag fand der Versuch in nachfolgend beschriebener Form statt, ohne nochmalige Applikation von HR.

2.1. Präparation

Zur Durchführung der Versuche war die Präparation der Trachea, des Gefäß-Nervenstranges beider Hinterextremitäten distal des Ligamentum inguinale und des Nervus ischiadicus erforderlich.

Als erstes wurde die Trachea unterhalb des Kehlkopfes freigelegt und eine Glaskanüle eingebunden. Durch Anschluß eines Thermistors konnte die Atmung sofort registriert und kontrolliert werden. Ferner war die Präparation beider Hinterextremitäten notwendig. Das rechte Bein diente zur Ödemerzeugung und Untersuchung, das linke zum direkten Vergleich als Kontrolle. Beim ersten wurde während eines Abschnitts des Versuchs mit Etacrynsäure ein Ödem erzeugt, das zweite normal vom Körper her mit Blut perfundiert. An diesem linken Bein wurde lediglich die V. femoralis in Höhe des Ligamentum inguinale bis 5 cm distal davon freipräpariert. Auf dieser Strecke wurden alle Seitenäste unterbunden. Durch ringförmiges Einbinden eines kleinen Schlauches aus Polyäthylen mit einer Verschlusskanüle hatten wir einen einfachen venösen Zugang. Beim zu schädigenden Bein wurden A. und V.femoralis und N. femoralis in Höhe des Ligamentum inguinale freipräpariert. Dabei wurden A. und V.circumflexa und profunda und alle anderen Nebenäste der Vasa femoralia unterbunden. Etwa 5 cm unterhalb des Ligamentum inguinale wurden diese kanüliert und die Polyäthylenschläuche zur Messung von arteriellem Blut- und Perfusionsdruck eingebunden.

Damit die Versorgung des zu schädigenden Beines vom Körper des Tieres her, bzw. ein Abfluß in den Körper nur über die Vasa femoralia erfolgte, wurde das Bein mittels Plastikbändern medial der Einbindestelle für die Meßstrecken völlig abgeschnürt. Dabei blieb der N.ischiadicus,

der zuvor dargestellt worden war, sowie der Gefäß-Nervenstrang geschont. Die Gefäße wurden schon beim Einbinden der Schläuche aus Polyvinylchlorid unterbunden. Der Lymphabfluß wurde durch die Abschnürung unterbrochen.

Während der Präparation und des Versuchsablaufs wurden die Tiere mit dem Rücken auf einem OP-Tisch gelagert. Die Temperatur des OP-Tisches wurde mittels Thermostat auf 37°C eingestellt. Damit die Umgebungstemperatur während der Versuchszeit möglichst konstant blieb, wurde zusätzlich eine Heizlampe über dem Tier eingeschaltet. Die Temperatur betrug dadurch $28-32^{\circ}\text{C}$. Diese Maßnahme hatte ferner den Vorteil, daß das Blut in der extrakorporalen Meßstrecke nicht zu sehr abkühlen konnte (Abdel-Sayed 1971).

2.2. Perfusion

Mittels einer Rollpumpe wurde die Extremität strömungskonstant perfundiert (Felix, Remien, Hällfritzsche 1971). Die Pumpe war dabei derart eingestellt, daß sie pro Zeiteinheit ebensoviel arterielles wie venöses Blut beförderte, unabhängig vom Tonus der Widerstandsgefäße. Widerstandsänderungen gingen mit einer Veränderung des Perfusionsdruckes einher. Dabei führte eine Erhöhung des Widerstandes zu einer Zunahme des Perfusionsdruckes. Die Perfusionsgeschwindigkeit wurde so eingestellt, daß der mittlere Perfusionsdruck gleich dem mittleren Blutdruck entsprach.

Zur Verdeutlichung des Perfusionskreislaufs vgl. Abbildung 1.

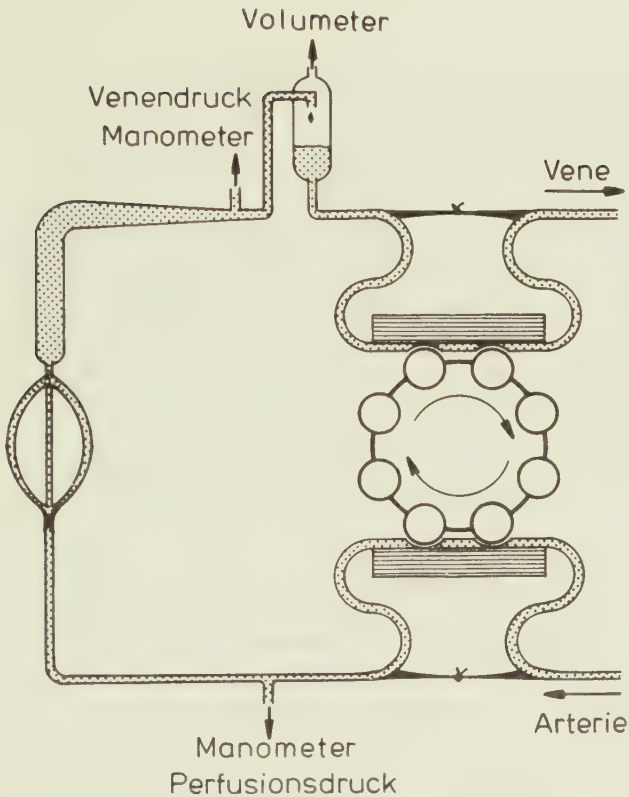


Abb. 1: Strömungskonstanter Perfusionskreislauf

Die Schläuche, in die das Blut geleitet wurde, bestanden aus Polyvinylchlorid. Für die intravasale Applikation von Pharmaka, für die Entnahme von Blut und für die Druckmessungen waren sie mit seitlichen Ansätzen versehen. Vor dem Einbinden in die A. und V. femoralis des zu schädigenden Beines und in die V. femoralis des anderen Beines wurden die Schläuche mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt, die Heparin (Thrombophob^R, 2000 U.S.P.E./kg) enthielten. Dadurch wurde die Gefahr der Thrombenbildung ausgeschlossen.

Auf der arteriellen Seite der Meßanordnung wurde stromaufwärts der Rollpumpe der systemische Blutdruck gemessen, stromabwärts der arterielle Perfusionsdruck. Weil der hohe systemische Blutdruck die Schläuche dehnte, der niedrige Venendruck dagegen nicht, war die Förderleistung auf der arteriellen Seite größer als auf der venösen (Remien 1974). Um arterielle und venöse Strömungen genau gleich stark zu machen, haben wir das arterielle Blut zweimal gepumpt. Zwischen der ersten und zweiten Förderung des Blutes durch die Pumpe wurde der Druck konstant gehalten. Wurde beim ersten Durchgang zuviel Blut gefördert, konnte es in einen venösen Abgang fließen. Der Perfusionsdruck der Pumpe wurde dabei dem physiologischen Blutdruck des Tieres zu Versuchsbeginn angepaßt.

Auf der venösen Seite durchfloß das Blut, das aus der V.femoralis kam, eine Überlaufkammer, die an ein Volumeter angeschlossen war und erreichte darüber die Pumpe. Die Höhe der Überlaufkammer war verstellbar, so daß sich der Druck am Ende des perfundierten Gebietes, d.h. der venöse Ausflußdruck, auf gewünschte Werte einstellen ließ. Aufgrund der gleichstarken, konstanten Perfusion arteriellen und venösen Blutes, konnte eine Änderung des Blutvolumens im Überlaufgefäß durch eine Veränderung des Venentonus oder durch ein Ungleichgewicht im transkapillären Flüssigkeitsaustausch bedingt sein. Wenn sich nämlich die Venen kontrahierten, dann floß mehr Blut in die Überlaufkammer, als aus ihr herausgepumpt wurde. Umgekehrt blieb bei einer Dilatation Blut in den Venen zurück (Felix et al. 1982). Weil die Kapazität der Venen begrenzt war, änderte sich das Volumen nur kurzfristig. Weiterhin konnten Volumenänderungen aber auch durch ein Ungleichgewicht im Flüssigkeitsaustausch erzeugt werden. Sobald mehr filtriert als reabsorbiert wurde, d.h. wenn eine Nettofiltration bestand, nahm das Volumen in der Über-

laufkammer zu. Diese Volumenänderungen erfolgten also langsamer und hielten deshalb längere Zeit an. Volumenänderungen wiesen folglich auf Venenreaktionen oder/und auf ein Ungleichgewicht im Flüssigkeitsaustausch hin.

Blieb das Blutvolumen im Überlaufgefäß konstant, so herrschte ein isovolumetrischer Zustand. Filtration und Absorption hielten sich das Gleichgewicht. Zur Untersuchung von Venenreaktionen und Änderungen der Kapillarpermeabilität mußte die Extremität in einen isovolumetrischen Zustand gebracht werden. Zunächst wurde die Perfusionsstärke derart eingestellt, daß der arterielle Perfusionsdruck ebenso groß war, wie der systemische Blutdruck. Die Perfusionsstärke entsprach dann der physiologischen Durchblutung. Sie wurde während des ganzen Versuchs beibehalten. Die Höhe der Überlaufkammer, die verstellbar war, bestimmte den venösen Ausflußdruck. Er wurde auf den Wert eingestellt, bei dem ebensoviel Blut in die Kammer floß, wie aus ihr herausgepumpt wurde. Der transkapilläre Flüssigkeitsaustausch befand sich dann im Gleichgewicht, d.h. in einem isovolumetrischen Zustand, den wir jeweils zu Versuchsbeginn herstellten.

Jeder Versuch konnte aufgrund der verschiedenen Perfusion des zu untersuchenden und geschädigten Beines in drei Abschnitte unterteilt werden.

Im ersten Abschnitt wurde der isovolumetrische Zustand bei strömungskonstanter Perfusion mit Blut eingestellt. Mittels Gas-Check wurde der ph-Wert des Blutes bestimmt. Eine metabolische Azidose wurde durch intravenöse Gabe von Bikarbonat vor Versuchsbeginn ausgeglichen. Sobald dies geschehen war, wurde eine venöse Blutprobe entnommen und der Eiweißgehalt nach der Biuret-Methode bestimmt. Bei den Versuchen mit intravenöser Pharmakongabe folgte anschließend die entsprechende Applikation. Ab

diesem Zeitpunkt wurde der Versuchsablauf konstant eingehalten. 15 Minuten nach Pharmakongabe folgte die intravenöse Applikation des Farbstoffs Evansblue als Eiweiß-indikator in einer Menge von 50 mg/kg KG. 10 Minuten nach Applikation von Evansblue wurde ein zweites Mal venöses Blut entnommen, die Eiweißbilanz bestimmt und mit der Evansblue-Konzentration photometrisch verglichen.

Der zweite Abschnitt wurde als "Schädigungsphase" bezeichnet. Zum Nachweis der ödemprotektiven Wirkung der untersuchten Pharmaka wurden die Endothelien derart geschädigt, daß sie für Eiweiß durchlässig wurden. Der Endothelschaden an den Kapillaren führte zu einem eiweißreichen Ödem, an Venen und Arterien zu einem Gefäßwand-ödem. Um eine Wirkung zu demonstrieren, die über die bereits beschriebene bei entzündlichen Ödemen hinausgeht, wählten wir zur Ödemerzeugung eine Substanz, von der wir annahmen, daß sie kein entzündliches Ödem hervorruft. Dies trifft für Etacrynsäure (Hydromedin^R) zu, die weder entzündlich noch vasoaktiv wirkt. Wir verwendeten Etacrynsäure zu 0,1% in isotoner Kochsalzlösung gelöst. Die Schädigungsphase dauerte 30 Minuten und gliederte sich in drei Abschnitte:

1. Auswaschen des Blutes aus der Extremität mit isotoner Kochsalzlösung

Um eine Bindung der ödemerzeugenden Substanz an Plasma-proteine oder etwaige Reaktionen mit den Blutbestandteilen zu vermeiden, wurde die Extremität mit 50 ml isotoner Kochsalzlösung blutleer gespült. Der venöse Ausflußdruck war währenddessen auf Null gesenkt. Die ersten 15 ml, die aus der Extremität kamen, wurden in einem Meßkolben aufgefangen und nach der Schädigungsphase dem Tier zur Kreislaufstabilität intravenös reinfundiert. Das weitere Perfusat wurde aufgefangen, sein Volumen gemessen

und verworfen. Von der Kochsalzlösung blieben 1-2 ml in der Extremität zurück, größere Abweichungen konnten nicht festgestellt werden. Die Dauer des Vorgangs betrug 10 Minuten.

2. Perfusion der ödemerzeugenden Substanz

Die Extremität wurde mit 5 ml Etacrynsäure/Min. 10 Minuten lang perfundiert, also mit insgesamt 50 ml. Die Perfusionstärke entsprach derjenigen der Blutperfusion. Das Perfusat wurde in einem Meßkolben aufgefangen, die Menge gemessen und verworfen. Der Beginn der Schädigung entsprach in der Zeitmessung dem Nullpunkt.

3. Auswaschen der ödemerzeugenden Substanz

Um zu verhindern, daß die endothelschädigende Etacrynsäure in den Körperkreislauf gelangt und dort Ödeme (Lungenödeme) verursacht, spülten wir nach Ablauf der Einwirkzeit die Extremität mit 50 ml isotoner Kochsalzlösung. Dadurch konnte die Etacrynsäure ausgewaschen werden. Die 50 ml Kochsalzlösung wurden ebenfalls mit 5 ml/Min. perfundiert, womit dieser Vorgang wiederum 10 Minuten beanspruchte. Auch bei dieser Spülung wurde das Perfusat aufgefangen, sein Volumen gemessen und verworfen. Die jeweilige Messung des Perfusats erlaubte uns einen Vergleich der Flüssigkeitsmenge, die während der Schädigungsphase insgesamt in der Extremität zurückblieb.

Nach dem Auswaschen der Etacrynsäure folgte wieder eine Perfusion mit Blut. Dieser letzte Abschnitt dauerte 45 Minuten. Genau zu diesem Zeitpunkt wurden die Tiere getötet. Haut und Muskulatur zur Bestimmung von Flüssigkeit und Eiweiß entnommen. Wasser konnte aus dem Blut in das Gewebe bereits während der Perfusion von Kochsalz übertreten, Eiweiß erst mit dem Beginn der Blutperfusion nach

der Schädigungsphase, weil ab diesem Zeitpunkt bei erhöhter Permeabilität eine anhaltende Filtration ins Interstitium stattfindet.

Der gesamte Zeitablauf des Versuchs ist in Abbildung 2 dargestellt.

SCHÄDIGUNGSPHASE					
-70	-10	0	10	20	65 min
//					
BLUT	NaCl	ETACRYN- SÄURE	NaCl	BLUT	
NORMALE	ISOLIERTE		NORMALE PERFUSION		

Abb. 2: Zeitablauf des Versuchs

2.3. Flüssigkeits- und Eiweißgehalt

Nach Beendigung des Versuchs wurde an beiden Hinterläufen die Haut 1 cm distal der Abschnürung bis zum Fuß völlig abpräpariert. Anschließend wurde in diesem Bereich die Muskulatur bis auf den Knochen abpräpariert. Die

Haut schnitten wir jeweils in feine 1-2 cm² große Teile. Die Muskulatur wurde, nach Entfernen der retroperitonealen Fettanteile, mit Hilfe eines Mixers homogenisiert. Haut- und Muskelanteile beider Beine wurden nun jeweils halbiert. Je eine Hälfte wurde zur Bestimmung von Flüssigkeits- und Eiweißgehalt verwendet.

Flüssigkeitsgehalt

Die Gewebeprobeen wurden in frischem Zustand und nach 24 Stunden Trockenzeit bei 120°C gewogen. Aus der Differenz des Gewichts konnte der Wassergehalt bestimmt werden, der auf 1 g Trockengewicht umgerechnet wurde. Die Ödemflüssigkeit pro Gramm Trockengewicht ergab sich aus dem Vergleich des Wassergehalts vom geschädigten und nicht geschädigten Bein.

Eiweißgehalt

Nach der Farbstoffmethode von Beach und Steinetz (1961) verwendeten wir Evansblue zum Nachweis der in das Interstitium übergetretenen Plasmaproteine. Die Tiere erhielten 30 Minuten vor der Schädigung mit Etacrynsäure 50 mg/kg KG Evansblue intravenös infundiert. Evansblue bindet sich zu 98 % an Plasmaproteine. Die Farbstoffkonzentration im Gewebe war ein Maß für den Proteinübertritt. Zur photometrischen Bestimmung des Evansblue mußte das Gewebe aufgearbeitet werden. Die Haut- und Muskelproben wurden in rauchender Salzsäure 24 Stunden lang mazeriert, danach mit Zephirol, einer Invertseife, versetzt. Es bildete sich ein Farbstoff/Zephirol-Komplex. Nach ca. 10 Minuten Inkubationszeit und wiederholtem Aufschütteln wurden die Proben in Chloroform überführt. In den Reagenzgläsern befanden sich, nach wiederum ca. 10 Minuten Inkubationszeit, Aufschütteln und Abzentrifugieren der Chloroform-

phase, von unten nach oben nun folgende Phasen: Chloroform, Trennschicht aus nicht mazerierten Gewebebestandteilen und die wasserlösliche Phase.

Die beiden oberen Schichten wurden mit einer Kanüle durchstoßen, die Chloroformphase aspiriert und in eine Glasküvette gefüllt, die sofort verschlossen wurde, um ein Verdampfen von Chloroform zu verhindern. Die Messungen der Farbstoffkonzentration erfolgten mit einem Photometer (Fa. Carl Zeiss) bei 620 nm gegen reines Chloroform. Die Bestimmung der Farbstoffkonzentration ergab sich aus dem Lambert-Beer'schen Gesetz:

$$c = \frac{E}{\epsilon \cdot d}$$

c : Konzentration

d : Schichtdicke

E : gemessene Extinktion

ϵ : Extinktionskoeffizient

Zur Berechnung der tatsächlichen Proteinmenge vom Farbstoffgehalt aus, war die Bestimmung von Eiweiß- und Farbstoffgehalt des Blutes erforderlich. Aus diesem Grund wurden 3 Blutproben während des Versuchs abgenommen. Die erste zu Versuchsbeginn, die zweite nach der Gabe von Evansblue und die dritte zum Versuchsende. Von jeder Probe wurde, nach Versetzen mit Salzsäure, Zephirol und Chloroform, der Farbstoffgehalt in gleicher Weise, wie oben beschrieben, gemessen.

2.4. Meßgrößen

Kreislaufwerte

Blut,- Perfusions- und venöser Ausflußdruck wurden arteriell auf seiten des geschädigten Beines mit Kristall-

membranometern der Fa. Hansen, Kopenhagen, gemessen und fortlaufend auf einem Mehrkanalschreiber registriert. Speziell vor und nach intravenöser Applikation der Pharmaka wurde auf Änderungen des Blutdrucks geachtet. Beim Perfusions- und venösen Ausflußdruck waren ebenfalls die Veränderungen vor und nach intravenöser Gabe von Interesse und zudem das Verhalten während der letzten 45 Minuten Blutperfusion, der Phase der Ödembildung.

Atemfrequenz

Die Glaskanüle in der Trachea wurde an einen Thermowiderstand (Felix 1964) angeschlossen. Dieser war über eine Meßbrücke mit dem Schreiber verbunden. Die Aufzeichnung der Atemfrequenz diente nur der Kontrolle, um notfalls künstlich beatmen zu können. Dieser Fall trat bei 2 Versuchen für die letzten 5-10 Minuten ein. Auch die Atemfrequenz wurde fortlaufend auf dem Mehrkanalschreiber registriert.

Intravasales Volumen (Venenvolumen)

Bei den Versuchen mit intravenöser Applikation des Pharmakons wurde das Venenvolumen, nach Einstellen des isovolumetrischen Gleichgewichts, vor der Pharmakongabe und 5 Minuten nach der Applikation gemessen. Wie erwähnt, weisen schnelle Änderungen auf Venenreaktionen, langsame auf eine Nettofiltration bzw. -absorption hin. Zur Messung des Venenvolumens wurde die Perfusion abgestellt, die Überlaufkammer unter das Tischniveau gesenkt und damit der intravasale Druck vermindert. Die Volumenzunahme in der Überlaufkammer wurde registriert. Das Überlaufgefäß füllte sich in der ersten Minute schnell, danach langsamer. Das Blut verließ die Venen nicht vollständig. Ein konstantes Restvolumen von ca. 30 % blieb zurück. Der Schreiber näherte sich in der dritten Minute einer isovolumetrischen Linie.

Nach 3-4 Minuten wurde die Perfusionspumpe wieder eingeschaltet, die Überlaufkammer auf die ursprünglich markierte Höhe eingestellt.

Die anfänglich schnelle Zunahme mit Blut im Überlaufgefäß entsprach der Blutmenge, die sofort aus den Venen in das Überlaufgefäß floß. Die langsame Volumenzunahme mußte auf eine Nettoabsorption aus dem Gewebe zurückgeführt werden (Johnson 1963). Um diese Tatsache zu berücksichtigen, wurde die Volumenbestimmung zwischen der 2. und 3. Minute durchgeführt. Durch Vergleich der Volumina vor und nach der Pharmakongabe, ließ sich die Frage der Venentonisierung mitbeantworten.

Zur Bestimmung des Venenvolumens siehe Abbildung 3.

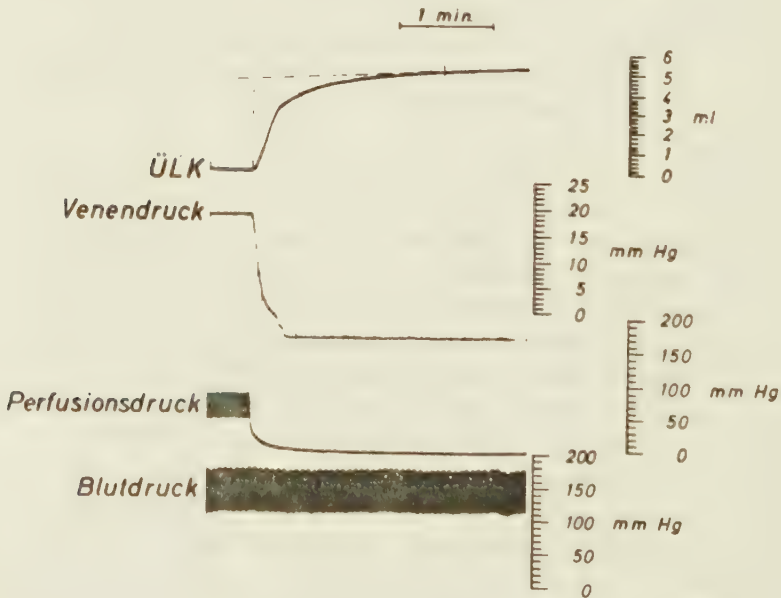


Abb. 3: Bestimmung des Venenvolumens

2.5. Statistische Berechnungen

Die Auswertung und Überprüfung der Ergebnisse auf ihre Signifikanz hin erfolgte mit Hilfe des t-Testes nach Student. Hierbei bedienten wir uns des Tests für unverbundene Stichproben. Ein Gesamtvergleich der Versuche, jeweils bei oraler und intravenöser Anwendung, erfolgte mit Computerberechnungen unter Verwendung der Varianzanalyse.

3. Diskussion der Methodik

Narkose

Die perorale Gabe von Chloralose bot im Vergleich zur intravenösen Applikation folgende Vorteile:

Die Konzentration des Narkotikums im Blut der Versuchstiere blieb während der gesamten Versuchszeit gleichmäßig verteilt. Ferner mußte das Narkotikum nicht nochmals während des Versuchs gegeben werden. Trotz peroraler Gabe lagen die notwendigen Dosen nicht über denen bei intravenöser Gabe (Remien 1974).

Durch unsere Applikationsform erfolgte der Wirkungseintritt der Narkose langsamer. Er benötigte 1-1,5 Stunden. Zahlreiche Autoren untersuchten bereits die systemischen und zentralnervösen Wirkungen von Chloralose (Übersicht bei Balis und Monroe 1964). Danach steht die erregende Wirkung auf das vegetative Nervensystem im Vordergrund. Durch Gabe von 1 ml Ketanest^R intramuskulär konnte eine sichere Analgesie gewährleistet werden.

Über den Einfluß der Chloralose auf die Reaktivität der peripheren Gefäße ist noch nichts bekannt. Damit entfallen auch Aussagen bezüglich einer Wirkungsverstärkung der geprüften Pharmaka durch Chloralose.

Um eine schnellere Absorption des Narkosemittels zu erreichen, verabreichten wir in Kontrollversuchen Chloralose in Propandiol-1,2 5%-ig gelöst, anstelle von Wasser. Der gewünschte schnellere Wirkungseintritt konnte erreicht werden. Jedoch stellte sich heraus, daß Propandiol-1,2 einen antiödematösen Effekt besitzt, der mit $p < 0,01$ statistisch signifikant war. Somit eignete sich dieses Lösungsmittel für unsere Untersuchungen nicht. Gross (1950) beschreibt ebenfalls die antiödematöse Wirkungsweise des Propandiols.

Präparation

Voraussetzung der Versuchsanordnung war die vollständige Unterbindung des Kollateralkreislaufs. Eine Überprüfung auf Dichtigkeit des Kollateralkreislaufs konnte während des Versuchs erfolgen. Zum einen mußte sich zu Versuchsbeginn ein isovolumetrischer Zustand einstellen, zum anderen gab die Bestimmung des intravasalen Volumens Aufschluß über die Dichtigkeit. Näherte sich der flache Teil der Volumenkurve einer Geraden, die nur gering von der Horizontalen abwich, konnte davon ausgegangen werden, daß alle Kollateralen des zu untersuchenden Beines unterbunden waren.

Einen zusätzlichen Hinweis auf Dichtigkeit der arteriellen Kollateralen gab zudem das Abfallen des Perfusionsdrucks auf 0 mmHg oder negative Werte während der Volumenbestimmung.

Die völlige Abschnürung des Untersuchungsbeines bedingte ebenfalls eine Unterbrechung des Lymphabflusses. Im ruhenden Muskel und der Haut konnte dies jedoch sicher als gering betrachtet werden, wenn auch eine Steigerung infolge der Kapillarschädigung wahrscheinlich ist.

Unsere Versuchsanordnung erforderte eine verhältnismäßig große extrakorporale Strecke mit einem Blutvolumen von ca. 10 ml. Eine Temperatursenkung in diesem Bereich hätte Einfluß auf die peripheren Gefäße haben können. Um dies auszuschließen, wurden die Versuchstiere mitsamt den extrakorporalen Strecken durch Heizen des OP-Tisches und einer Wärmelampe, die über dem Tier angebracht war, auf annähernd konstant 32⁰C gehalten. Damit konnte dem möglichen Kälteeinfluß auf die peripheren Gefäße entgegengewirkt werden.

Perfusion, Schädigungsphase und Evansblue

Der geschilderte Versuchsablauf ermöglichte die intraarterielle Applikation der endothelschädigenden Etacrynsäure, ohne sie in den Körperkreislauf gelangen zu lassen. Jedoch läßt sich eine Anoxie oder Ischämie während der Schädigungsphase nicht ausschließen.

Dieser und der Einfluß von Evansblue, Perfusionstechnik und Perfusion wäßriger Lösungen auf die Kapillarpermeabilität wurde in früheren Versuchen bereits untersucht (Felix 1978). Dabei wurde der gleiche Versuchsablauf eingehalten, mit dem Unterschied, daß während der Schädigungsphase 30 Minuten lang Kochsalz perfundiert wurde. Dadurch gelangte keine ödematös wirksame Substanz in das Tier. In diesen Versuchen konnte keinerlei Unterschied des Eiweiß- und Flüssigkeitsgehalts im Interstitium beider Beine festgestellt werden. Somit entfällt eine Einflußnahme der Perfusionstechnik auf die Ergebnisse der antiödematösen Wirkungsweise der Versuchsspharmaka.

Zur Messung des Proteingehalts im Gewebe diente uns Evansblue als Indikator. Mit zu berücksichtigen war, daß die Kapillarmembran unter physiologischen Bedingungen schon in geringerem Maße für Eiweiß durchlässig ist (Hauck 1969, Appelgren 1966). Evansblue war zu 98 % an Plasmaproteine gebunden. Der freie Anteil des Farbstoffs blieb dabei unberücksichtigt. Man kann aber davon ausgehen, daß nichtgebundenes Evansblue die Blutbahn verließ und an Gewebepollen gebunden wurde (Le Veen 1947). Da die beiden Beine davon gleichermaßen betroffen sind, kann der entstehende Fehler als gering betrachtet werden.

Lösungsmittel der Pharmaka

Die untersuchten Pharmaka wurden in H_2O , NaCl oder Polyäthylenglykol aufgelöst. Alle Lösungsmittel wurden in Kontrollversuchen auf eine mögliche Versuchsbeeinflussung überprüft. Dazu wurden NaCl und Polyäthylenglykol allein i.v. jeweils in eigenen Kontrollreihen anstelle der Pharmaka verabreicht. Wir konnten dabei insbesondere keinen antiödematösen Einfluß feststellen, der die Ergebnisse hätte verfälschen können.

4. Verwendete Substanzen

Zur Auslösung eines nichtentzündlichen Ödems verwendeten wir, wie eingangs beschrieben, das Diuretikum Etacrynsäure (Hydromedin^R) 0,1%-ig in 0,9% NaCl gelöst.

Die ödemprotektive Wirkung wurde an folgenden Pharmaka geprüft:

a) Tri-Methyl-Hesperidin-Chalkon (TMHC)

Tri-Methyl-Hesperidin-Chalkon ist ein an den 3', 5', 9'-Hydroxylgruppen synthetisch methyliertes Hesperidinchalkon, das auch in geringen Mengen mono- und dimethoxylierte Derivate enthält. Dieses stabilisierte Chalkon kann sich nicht mehr tautomer durch Lösen der C 2 = C 3-Doppelbindung in das Hesperidin umlagern, wie dies dem Hesperidinchalkon durch die freie C 9-OH-Gruppe bei günstigen pH-Werten noch möglich ist (vgl. dazu bei Seidenberger). Die Ausgangssubstanz Hesperidin wird als Glykosid aus Zitrusfrüchten gewonnen und zählt zu den von Szent-Györgyi (1938) entdeckten Bioflavonoiden. Jene Bioflavonoide mit einem heterozyklischen Sauerstoffring und Einfachbindung zwischen C 2 und C 3, wie Hesperidin, werden als Flavanone bezeichnet. Das gut wasserlösliche TMHC wurde in 0,9% NaCl gelöst und 2%-ig appliziert.

b) O-(β-Hydroxyethyl)-rutosid (HR)

Als weiteres wasserlösliches Pharmakon verwendeten wir O-(β-Hydroxyethyl)-rutosid (HR), das vor ca. 20 Jahren entwickelt wurde. Durch Hydroxylierung des in der Therapie am häufigsten verwendeten Flavonoids Rutin, entsteht das sehr leicht wasserlösliche HR mit einem mittleren Molekulargewicht von 750. HR ist ein Gemisch,

dessen Zusammensetzung mit Hilfe der Gaschromatographie nachgewiesen wurde (Schmidt 1978, Balant 1983). HR wird oral und intravenös bei der chronischen Veneninsuffizienz des Menschen therapeutisch verwendet. Wir applizierten HR als 10%-ige Lösung.

c) Ruscogenin

Das Steroidsaponin Ruscogenin wurde 1955 von Lapin und Sannie aus dem Rhizom des Mäusedorns (*Ruscus aculeatus*) durch alkoholische Extraktion gewonnen. Die Heilwirkung, die von der Ruscuspflanze ausgeht, ist in Italien und Frankreich schon seit Jahrhunderten bekannt. Bei unseren intravenösen Versuchen lag Ruscogenin 0,2%-ig, bei den oralen Versuchen 1%-ig vor. Als Lösungsmittel für die fettlösliche Substanz diente jeweils Polyäthylenglykol.

d) Clobenosid

Vor einigen Jahren wurde Clobenosid (Zy 15028, Fa. Zyma, München), ein Verwandter des Tribenosids (Glyvenol^R), unter anderen fettlöslichen Zuckerderivaten synthetisiert. Clobenosid ist ein Glucofuranosid. Clobenosid liegt, 4%-ig in Polyäthylenglykol gelöst, in Form eines zähflüssigen Öles vor, das leicht gelblich ist, mit einem Geruch von Bittermandeln. Erste vorklinische Untersuchungen zeigten bei Clobenosid entzündungshemmende, schmerzlindernde, antiallergische und antiödematöse Eigenschaften.

e) Di-O-Diphenylmethylen 3', 4' (+)-catechin (GCP-52)

Als dritte fettlösliche Substanz untersuchten wir den Katechinabkömmling GCP-52 (Di-O-Diphenylmethylen 3', 4' (+)-catechin, Zy 15051, Fa. Zyma, München). GCP-52 besitzt ein Molekulargewicht von 454,68 und läßt sich ebenfalls in Polyäthylenglykol auflösen. Wir verwendeten

die Substanz bei intravenöser Gabe 4 %-ig, oral 10 %-ig, um die zu gebende Menge möglichst gering zu halten. Mit GCP-52 wurden bisher nur wenige vorklinische Versuche durchgeführt, die jedoch bereits antiödematöse Eigenschaften der Substanz erkennen lassen.

Nachfolgend die Strukturformeln der ödemprotektiven Pharmaka:

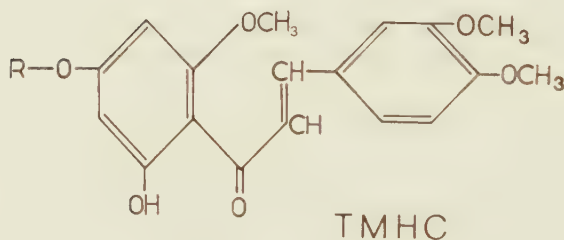
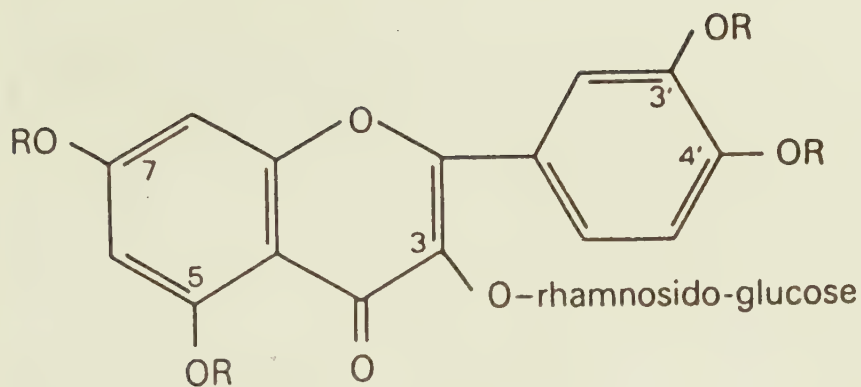


Abb. 4: Tri-Methyl-Hesperidin-Chalkon (TMHC)



$R = -H \text{ or } -CH_2-CH_2-OH$

Abb. 5: O-(β -Hydroxyethyl)-rutosid (HR)

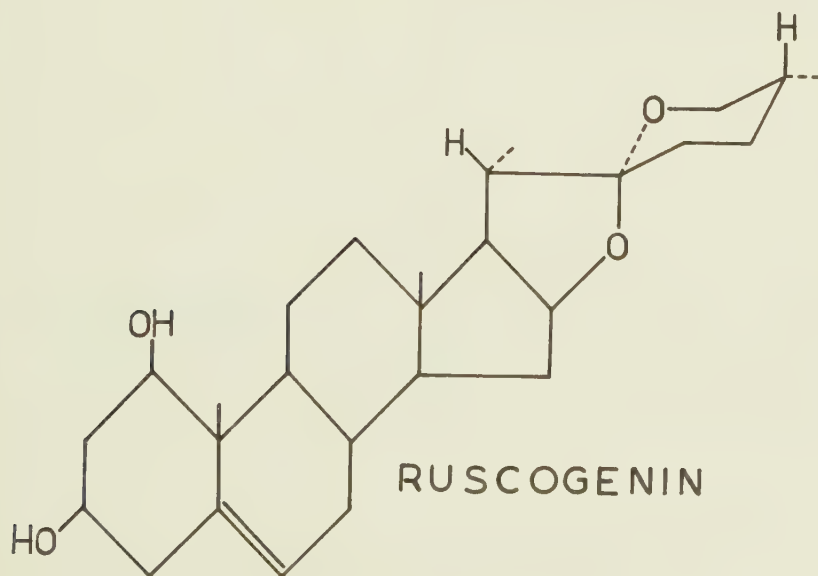


Abb. 6: Ruscogenin

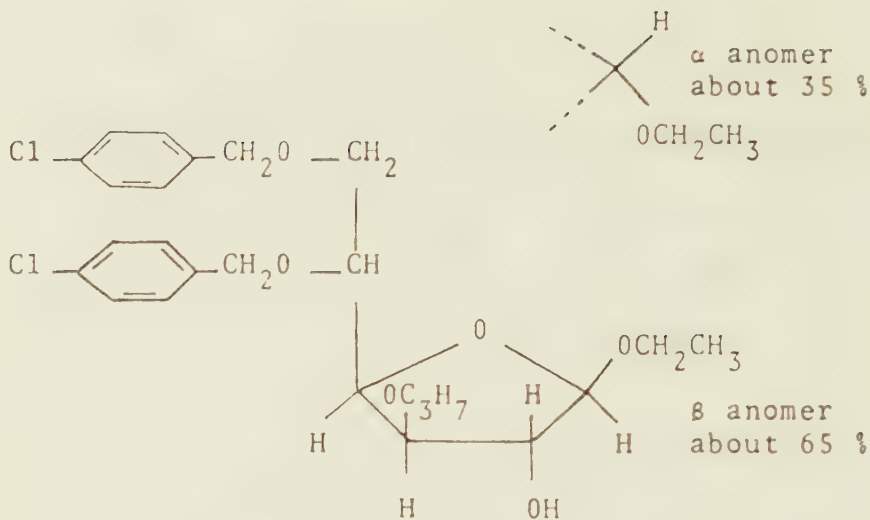


Abb. 7: Clobenosid

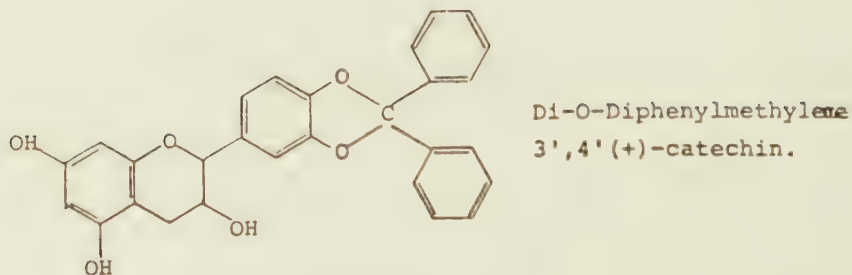


Abb. 8: Di-O-Diphenylmethylene 3',4' (+)-catechin (GCP-52)

Weiterhin verwendeten wir folgende Substanzen:

Chloralose

Propandiol - 1,2

Ketanest^R

Evansblue 2 %-ig

Biuret-Reagenz

Heparin (Thrombophob^R)

Polyäthylenglycol

Zephirol^R

5. Ergebnisse

Eine Überprüfung der Wirkung und der Methodik war während der Versuchsreihe durch 20 Kontrollversuche mit alleiniger Schädigung durch Etacrynsäure möglich, ohne daß ein ödemprotektives Pharmakon gegeben wurde. Wir führten zu Beginn der Versuchsreihe 6 Kontrollversuche durch, die übrigen in regelmäßigen Abständen zwischen den Versuchen mit ödemprotektiven Pharmaka. Somit war eine Überprüfung der Methodik laufend möglich.

5.1. Kontrollversuche

Bei den Versuchen, die uns zur Wirkungskontrolle dienten, wurden experimentell durch das Diuretikum Etacrynsäure (Hydromedin^R) Ödeme erzeugt. Hierbei lief der Versuch ebenso ab, jedoch ohne ödemprotektive Pharmaka. Anstelle des Pharmakons wurden die Lösungsmittel Polyäthylenglykol oder NaCl in entsprechender Menge intravenös zum Zeitpunkt der Pharmakongabe oder vor Versuchsbeginn oral gegeben. Die Ergebnisse der Ödemversuche mit Polyäthylenglykol ließen keine Unterschiede in der Ödementwicklung gegenüber Versuchen mit NaCl erkennen. Damit konnte davon ausgegangen werden, daß ein wesentlicher Einfluß der Lösungsmittel auf die Ödementwicklung und somit die Ödemhemmung nicht gegeben war.

Um eine schnellere Resorption des Narkosemittels zu erreichen, lösten wir probeweise Chloralose in 1,2-Propanediol. Bei den sich anschließenden Kontrollversuchen stellte sich jedoch ein deutlicher, signifikanter, ödemprotektiver Effekt des 1,2-Propandiols heraus. Damit mußte eine Anwendung des 1,2-Propandiols zur schnelleren Narkoseresorption unterbleiben.

Die Ergebnisse zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1: Kontrollversuche, Narkosemittel Chloralose
in 1,2 Propandiol gelöst

		Haut		Muskel	
n		Wasser	Protein	Wasser	Protein
4	$\bar{x}$	0,33	0,60 ^a	0,60	3,96 ^b
	SE	0,12	0,19	0,08	0,81
Mind. in %			69		61

$$^a p < 0,05 \quad ^b p < 0,0001$$

Wasser: ml/g Trockengewicht

Protein: mg/g Trockengewicht

Unter Etacrynsäure bildete sich in Haut und Muskulatur ein deutliches Ödem aus. Die Steigerung des Flüssigkeitsgehalts nach Etacrynsäureperfusion lag bei Haut und Muskulatur ungefähr im gleichen Rahmen. Der Flüssigkeitsgehalt in der Haut stieg um 26 % von 1,88 auf 2,37 ml/g Trockengewicht an ($p = 0,0014$). Der Ausgangswert in der Muskulatur lag erwartungsgemäß höher als in der Haut. Der Flüssigkeitsgehalt der Muskulatur stieg um 32 %, von 3,09 auf 4,07 ml/g Trockengewicht.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse nach Etacrynsäureperfusion zeigen Tabelle 2 und Abbildung 9.

Die Erhöhung des Plasmaproteins im Muskel war besonders stark ausgeprägt. Die mit Etacrynsäure geschädigte Extremität enthielt im Mittel fast das 7-fache an Protein im Muskel gegenüber der Kontrollextremität. So betrug der Proteingehalt in der Kontrollextremität 1,68, in der geschädigten Extremität 11,60 mg/g Trockengewicht im Mittel. Dies entsprach einer Zunahme um 700 % ($p = 0,0001$).

In der Haut kam es nach Perfusion mit Etacrynsäure zu einem Anstieg des Proteingehalts um 67,3%. Der Ausgangswert lag bei der Kontrollextremität für das Protein in der Haut mit 2,93 mg/g Trockengewicht um 42% höher als im entsprechenden Muskelgewebe (1,68 mg/g Trockengewicht). Daher könnte aufgrund des signifikanten Unterschiedes ($p = 0,0002$) im nicht geschädigten Gewebe davon ausgegangen werden, daß die physiologische Permeabilität der Hautgefäße für Plasmaproteine größer sein muß als die der Muskelgefäße. Nach Schädigung mit Etacrynsäure kam es auch im Hautgewebe zu einer erhöhten Proteinanreicherung. Der Ausgangswert von 2,93 mg Protein/g Trockengewicht stieg auf 4,91 mg Protein/g Trockengewicht in der geschädigten Extremität. Dies entspricht einer Steigerung von 67,3%, womit das Ergebnis auch bei der Haut mit $p = 0,0004$ signifikant war.

Eine zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse mit und ohne Perfusion mit Etacrynsäure zeigen Tabelle 2 und Abbildung 9.

Tabelle 2: Kontrollversuche

	n		Haut		Muskel	
			Wasser	Protein	Wasser	Protein
nicht geschädigtes Bein	16	$\bar{x}$	1,88	2,93	3,09	1,68
		SE	0,09	0,28	0,04	0,10
geschädigtes Bein	16	$\bar{x}$	2,37 ^a	4,06 ^a	4,91 ^b	11,60 ^c
		SE	0,10	0,24	0,57	0,45

^a $p < 0,001$ ^b $p < 0,004$ ^c $p < 0,0001$

Wasser: ml/g Trockengewicht

Protein: mg/g Trockengewicht

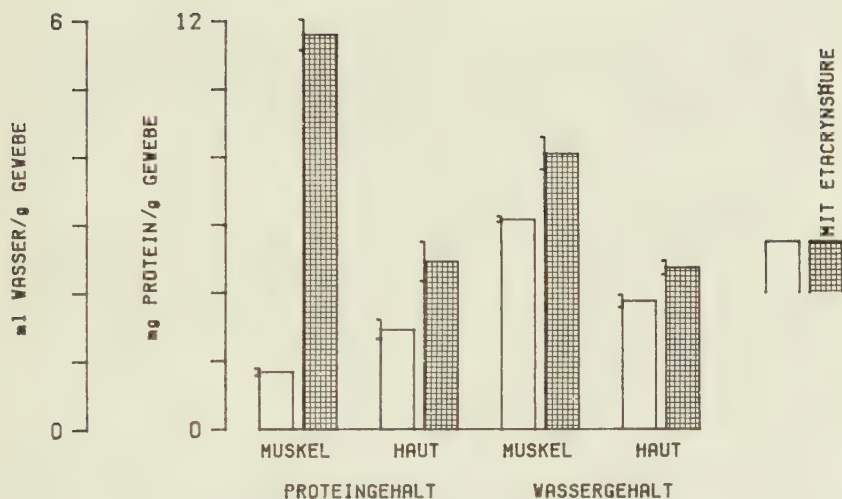


Abb. 9: Kontrollversuche

Vergleich zwischen dem mit Etacrynsäure geschädigten Bein und dem nicht geschädigten Bein.

Mit Etacrynsäure konnte also ein sehr starkes Ödem erzeugt werden. Bei der Muskulatur stellte sich eine besonders ausgeprägte Zunahme des Ödemproteins heraus. Das Ödem begann sich bereits während der Perfusion mit Etacrynsäure zu entwickeln. Dies wird dadurch deutlich, daß nach Beendigung der Schädigungsphase im Mittel $12,12 \pm 1,78$ ml Flüssigkeit von den 50 ml Etacrynsäure und 50 ml NaCl in der Extremität zurückblieben. Damit konnte man davon ausgehen, daß die terminale Strombahn strukturell verändert und sehr schnell durch Etacrynsäure geschädigt wurde.

Präkapillärer Widerstand

Der Strömungswiderstand nahm bei der Ödementwicklung zu. Dadurch stieg der arterielle Perfusionsdruck während der Ödementwicklung, d.h. in den letzten 45 Minuten des Versuchs nach der Schädigung bei normaler Blutperfusion, um über 109 % an. Die währenddessen filtrierte Flüssigkeitsmenge betrug 8,33 (+ 0,69) ml im Mittel.

Volumenzunahme

Auf eine direkte Bestimmung der Volumenzunahme des Gewebes wurde verzichtet. Da man den Flüssigkeitsübertritt dafür verantwortlich machen kann, läßt sich die Volumenzunahme folgendermaßen berechnen:

$$V = \frac{F_{\text{ö}} - F_{\text{k}}}{F_{\text{k}}} \cdot 100$$

V : Volumenzunahme

$F_{\text{ö}}$: Flüssigkeitsgehalt im Ödem bezogen auf 1 g Trockengewicht

F_{k} : Flüssigkeitsgehalt der Kontrolle bezogen auf
1 g Trockengewicht

Ferner konnte die Volumenzunahme durch das Überlaufgefäß berechnet werden. Dabei wurde die Differenz im Überlaufgefäß (ΔU) nach der Schädigungsphase und am Ende der Blutperfusion berechnet. Der Anstieg zum Ende der Blutperfusion läßt die Volumenzunahme bestimmen.

Damit ergibt sich folgende Volumenzunahme nach Schädigung mit Etacrynsäure:

Haut: 26 %

Muskel: 32 %

Etacrynsäure schädigte das Gefäßendothel erheblich, so daß sich ein starkes eiweißreiches Ödem entwickelte. Der Gehalt an Ödemwasser und Ödemprotein war in der Muskulatur höher als in der Haut.

5.2. TMHC (Tri-Methyl-Hesperidin-Chalkon)

5.2.1. Intravenöse Anwendung

Im Bestreben die Endothelschädigung durch Etacrynsäure möglichst stark abzuschwächen oder sogar aufzuheben, wurden Versuche mit steigender Dosis von TMHC durchgeführt. Die Tiere erhielten TMHC in isotoner Kochsalzlösung 2%-ig gelöst in einer Dosis von 10, 20 und 50 mg/kg KG i.v., jeweils 30 Minuten vor Applikation der ödemerzeugenden Etacrynsäure.

TMHC beeinflusste das Ausmaß des Wasserödems in der Haut weniger als in der Muskulatur. Bei der 10 mg/kg KG-Dosis lag der Mittelwert der Differenz zwischen geschädigter und nicht geschädigter Extremität für den Wassergehalt der Haut mit $0,69 \pm 0,18$ (SE) ml/g Trockengewicht sogar höher als bei den Kontrollversuchen. Die 20 mg/kg KG-Dosierung brachte eine Verminderung des Wassergehalts der Haut um 21 % mit einem Wert von $0,38 \pm 0,09$ (SE) ml/g Trockengewicht. 50 mg TMHC/kg KG erreichten eine Verbesserung von 13 % mit $0,42 \pm 0,17$ (SE) ml/g Trockengewicht.

Der Wassergehalt der Muskulatur konnte durch TMHC stärker als in der Haut vermindert werden. Das Ausmaß der Beeinflussung war wesentlich von der Dosishöhe abhängig. 10 mg TMHC/kg KG verminderten den Wasserübertritt um 26 % bei einem Wert von $0,57 \pm 0,12$ (SE) ml/g Trockengewicht. Die Dosisverdoppelung auf 20 mg TMHC/kg erreichte eine Hemmung des Wasserübertritts um 46 % bei einem Wert von $0,41 \pm 0,09$ (SE) ml/g Trockengewicht. Hierbei wurde ein Wirkungsgipfel deutlich, da eine weitere Dosissteigerung auf 50 mg TMHC/kg KG nur eine Besserung von 39 % bei einem Wert von $0,47 \pm 0,14$ (SE) ml/g Trockengewicht erzielte.

Die Hemmung des Wasserübertritts in die Muskulatur durch TMHC war bei einer Dosierung von 20 mg/kg KG mit $p < 0,01$ statistisch signifikant.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse zeigen Tabelle 3 und Abbildung 10.

Der Übertritt von Plasmaproteinen in die Haut konnte bei einer Dosis von 20 und 50 mg/kg KG um 44 % bzw. 56 % gehemmt werden. Die Ergebnisse lagen bei 10 mg/kg KG im Mittel sogar höher als bei den Kontrollversuchen.

Der Proteingehalt des Muskels war bei jeder der gegebenen Dosen statistisch signifikant niedriger gegenüber den Kontrollversuchen. Das Ausmaß der protektiven Wirkung war jedoch wiederum stark abhängig von der Dosis. Der Wirkungsgipfel von TMHC lag eindeutig bei einer Dosis von 20 mg TMHC/kg KG. Das Ausmaß der protektiven Wirkung betrug 73 % mit $2,63 \pm 0,64$ (SE) mg/g Muskelgewebe und war mit $p < 0,0001$ statistisch hoch signifikant. Die Ergebnisse bei den Versuchsreihen mit 10 und 50 mg TMHC/kg KG brachten einander vergleichbar niedrige Werte. So erreichten wir mit 10 mg TMHC/kg KG eine Verminderung des Ödemproteins um 48 % bei $5,20 \pm 0,67$ (SE) mg/g Muskel, wobei die Ergebnisse mit $p < 0,001$ statistisch signifikant gegenüber den Kontrollversuchen waren. Bei 50 mg TMHC/kg KG lagen die Ergebnisse etwas schlechter als bei 10 mg TMHC/kg KG. Die erreichte Verminderung des Ödemproteins lag bei 43 %, mit einem Wert von $5,71 \pm 0,55$ (SE) mg/g Muskel, bei $p < 0,01$. Der Wirkungsgipfel bei 20 mg TMHC/kg KG konnte auch statistisch bestätigt werden. Die Ergebnisse mit 20 mg TMHC/kg KG waren gegenüber 10 und 50 mg TMHC/kg KG jeweils mit $p < 0,01$ deutlich besser.

Die Ödementwicklung läßt sich durch intravenöse Gabe von TMHC abschwächen, jedoch nicht völlig verhindern. Das Ausmaß der protektiven Wirkung ist jedoch in einer besonderen Art dosisabhängig: Am stärksten wirkten 20 mg TMHC/kg KG. Interessanterweise erbrachte eine Dosissteigerung auf 50 mg/kg KG keine weitere Wirkungssteigerung, sondern ähnliche Ergebnisse wie mit 10 mg/kg KG.

Tabelle 3: Protektive Wirkung von TMHC bei i.v. Applikation am Etacrynsäureödem im Hinterlauf der Katze

			Haut		Muskel	
			Wasser	Protein	Wasser	Protein
Kontrolle	16	$\bar{x}$	0,48	1,99	0,76	10,01
		SE	0,04	0,33	0,07	0,41
10 mg/kg	6	$\bar{x}$	0,69	2,30	0,57	5,20 ^b
		SE	0,18	0,92	0,12	0,67
		Mind. in %			25	48
20 mg/kg	6	$\bar{x}$	0,38	1,12	0,41 ^c	2,63 ^a
		SE	0,09	0,58	0,09	0,64
		Mind. in %	21	44	46	73
50 mg/kg	5	$\bar{x}$	0,42	0,88	0,47 ^d	5,71 ^c
		SE	0,17	1,15	0,14	0,55
		Mind. in %	13	56	39	43

^a $p < 0,0001$

^b $p < 0,001$

^c $p < 0,01$

^d $p < 0,05$

Wasser: ml/g Trockengewicht

Protein: mg/g Trockengewicht

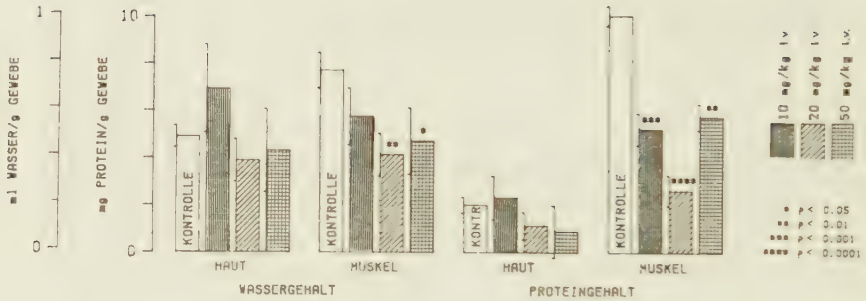


Abb. 10: Protektive Wirkung von TMHC bei i.v.-Applikation

Venentonisierung

Eine Venentonisierung, erkennbar an einer Änderung des Venenvolumens und damit einer Füllung des Überlaufgefäßes, nach der intravenösen Injektion von TMHC, konnte bei keiner der untersuchten Dosierungen festgestellt werden.

Blutdruckwirkung

TMHC senkte den Blutdruck vorübergehend. Er sank innerhalb der ersten Minute nach i.v. Gabe und erreichte nach zwei Minuten sein Minimum. Im Gegensatz zur ödemprotektiven Wirkung fanden wir hier eine normale Dosis-Wirkungs-Beziehung. Dabei stellte sich eine Senkung des Blutdruckmittelwerts bei TMHC nach 10 mg/kg KG um 21 %, nach 20 mg/kg KG um 26 % und nach 50 mg/kg KG um 32 % heraus. Die Höhe der Blutdrucksenkung korreliert also mit der Dosis. Dieser Effekt klang innerhalb von 2-3 Minuten ab. Die Ergebnisse waren statistisch signifikant; vgl. dazu Abbildung 11.

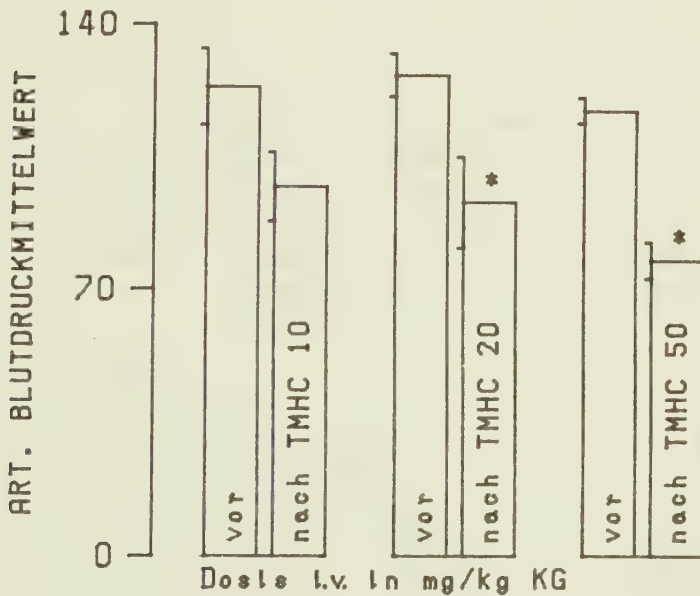


Abb. 11: Blutdruckwirkung nach i.v.-Gabe von TMHC

* $p < 0,05$

Präkapillärer Widerstand

Im letzten Abschnitt des Versuchs, den 45 Minuten normaler Blutperfusion nach der Schädigung durch Etacrynsäure, lag das Ansteigen des arteriellen Perfusionsdrucks nach 10 mg TMHC/kg KG im Rahmen der Kontrollversuche, d.h. ein Ansteigen um 108 bzw. 109 %. Bei der am besten ödemprotektiven Dosis von 20 mg/kg KG lag der Anstieg des Perfusionsdrucks bei 38 % und damit erheblich unter dem der Kontrollversuche. Aber auch nach 50 mg/kg KG stieg der Strömungswiderstand weniger an, nämlich um 72 %. Bei diesen Ergebnissen korreliert die bestwirksame Dosis von 20 mg/kg KG mit dem geringeren Anstieg des Perfusionsdrucks.

5.2.2. Orale Anwendung

Bei der oralen Anwendung von TMHC gingen wir von einer 10 %-igen Absorption aus. Da i.v. 10 und 20 mg/kg KG wirkten, gaben wir oral eine Dosis von 100 und 200 mg TMHC/kg KG. So erhielten die Tiere 100 bzw. 200 mg TMHC/kg KG vor Beginn der Narkose über eine Magensonde appliziert. Dies entsprach einer Vorbehandlungszeit von etwa 4 Stunden vor der Ödemerzeugung mit Etacrynsäure.

Diese Dosen erwiesen sich indessen nur zum Teil als wirksam. Eine Verminderung des Gehalts an Ödemwasser in Haut und Muskulatur konnte weder mit 100 noch mit 200 mg TMHC/kg KG erreicht werden. Die Werte lagen, insbesondere bei 200 mg TMHC/kg KG sogar über denen der Kontrollversuche.

Der Proteingehalt der Haut ließ sich mit 100 und 200 mg TMHC/kg KG nur ein wenig herabsetzen. Die Ergebnisse bei 100 mg TMHC/kg KG lagen mit 1,93 mg/g Hautgewebe nur geringfügig unter den Kontrollversuchen, die bei 1,99 mg/g Hautgewebe lagen. Wiederum waren die Werte bei 200 mg TMHC/kg KG deutlich schlechter als die Kontrollen. Sie

betrugen 2,79 mg/g Hautgewebe. Damit hatte die verdoppelte orale Dosis eher einen gegenteiligen Effekt.

Das Ödemprotein der Muskulatur konnte jedoch erheblich gesenkt werden. 100 mg TMHC/kg KG ergaben eine Herabsetzung des Ödemproteins um 27 % mit $7,30 \pm 0,92$ (SE) mg/g Trockengewicht. Damit war das Ergebnis mit $p < 0,01$ statistisch signifikant gegenüber den Kontrollversuchen. Mit 200 mg TMHC/kg KG konnte eine Verbesserung der Kontrollwerte um 63 %, bei $3,63 \pm 0,16$ (SE) mg/g Trockengewicht erreicht werden ($p < 0,001$). Damit erreichten wir bei Verdoppelung der Dosis eine wesentliche Steigerung der ödemprotektiven Wirkung bei der Muskulatur. Die Verbesserung gegenüber der niedrigeren Dosierung war auch statistisch mit $p < 0,01$ signifikant.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse nach oraler Gabe von TMHC zeigen Tabelle 4 und Abbildung 12.

Tabelle 4: Protektive Wirkung von TMHC bei oraler Applikation am Etacrynsäureödem im Hinterlauf der Katze

	n		Haut		Muskel	
			Wasser	Protein	Wasser	Protein
Kontrolle	16	$\bar{x}$	0,48	1,99	0,76	10,01
		SE	0,04	0,33	0,07	0,41
100 mg/kg	5	$\bar{x}$	0,54	1,93	0,75	7,29 ^a
		SE	0,13	0,81	0,20	0,91
		Mind. in %				27
200 mg/kg	5	$\bar{x}$	0,97	2,79	0,90	3,65 ^b
		SE	0,33	1,20	0,26	0,35
		Mind. in %				63

^a $p < 0,01$

^b $p < 0,001$

Wasser: ml/g Trockengewicht

Protein: mg/g Trockengewicht

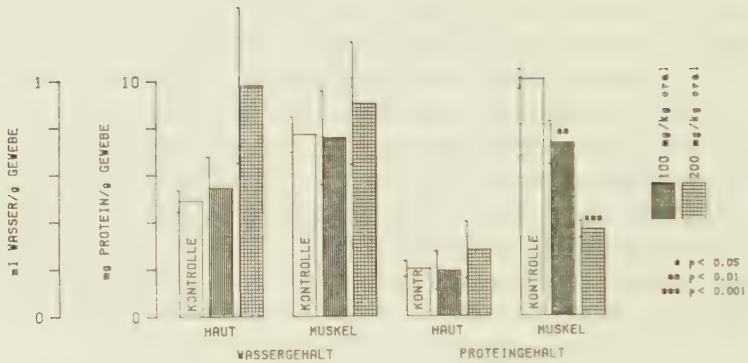


Abb. 12: Protektive Wirkung von TMHC nach oraler Applikation

Präkapillärer Widerstand

Bei den oralen Versuchen mit TMHC war das Verhalten des arteriellen Perfusionsdrucks in den letzten 5 Minuten bei der Blutperfusion auffallend. Stieg er bei 100 mg/kg KG noch um 25 % an, womit der Anstieg deutlich unter dem bei den Kontrollen lag, so sank er bei 200 mg/kg KG sogar um 0,5 %. Diese Ergebnisse entsprachen der jeweiligen Wirkung auf den Proteingehalt im Muskel.

5.3. 0-(β -Hydroxyethyl)-rutoside (HR)

5.3.1. Intravenöse Anwendung

Um einen Dosis-Wirkungs-Vergleich zwischen den verschiedenen Substanzen durchführen zu können, wählten wir eine Dosis von 20 mg HR/kg KG bei intravenöser Applikation.

Nach intravenöser Gabe von 20 mg HR/kg KG konnte bei Haut und Muskulatur keine Verminderung des Gehalts an Ödemwasser erreicht werden. Die Werte lagen bei der Haut mit $0,62 \pm 0,18$ ml/g Trockengewicht über denen der Kontrollversuche. Bei der Muskulatur lagen die Ergebnisse mit $0,73 \pm 0,31$ um 4 % unter denen der Kontrollen.

HR konnte nach intravenöser Applikation das Ödemprotein in der Haut stärker als in der Muskulatur senken. Die Verminderung betrug in der Haut 53 %, bei $0,95 \pm 0,13$ mg/g Trockengewicht. In der Muskulatur wurde eine Verminderung des Ödemproteins um 17 % erreicht, bei $8,35 \pm 0,62$ mg/g Trockengewicht. Dieses Ergebnis war mit $p < 0,05$ statistisch signifikant.

5.3.2. Orale Anwendung

Da von einer 10 %-igen Absorption nach oraler Gabe ausgegangen wurde und ein Dosis-Wirkungs-Vergleich mit TMHC erwünscht war, wählten wir eine Dosis von 200 mg HR/kg KG, die oral vor Narkosebeginn gegeben wurde. Dies entsprach einer Vorbehandlungszeit von 4 Stunden vor der Ödemerzeugung durch Etacrynsäure, wie bei allen Versuchen mit akuter oraler Vorbehandlung. In einer weiteren Versuchsreihe wurden die Katzen vier Tage lang mit einer Dosis von 20 mg HR/kg KG oral vorbehandelt. Ausgehend von einer Halbwertszeit von 20 Stunden ist nach 4

Halbwertszeiten, dies entspricht etwa 4 Tagen, das Fließgleichgewicht und damit die zur Erhaltungsdosis entsprechende Höhe im Organismus erreicht.

Die orale Gabe von 200 mg HR/kg KG brachte eine Senkung des Wasserübertritts in die Haut um 22 %, in den Muskel um 66 % im Mittel. Die Ödemflüssigkeit in der Haut konnte gegenüber den Kontrollversuchen von $0,48 \pm 0,04$ auf $0,38 \pm 0,06$ ml/g Trockengewicht vermindert werden. Bei der Muskulatur sank das Ödemwasser von $0,76 \pm 0,07$ auf $0,26 \pm 0,27$ ml/g Trockengewicht. Die Ergebnisse bei der Muskulatur waren mit $p < 0,01$ statistisch signifikant gegenüber den Kontrollversuchen.

Auch bei der Beeinflussung des Proteingehalts zeigte die orale Gabe von 200 mg HR/kg KG wesentlich bessere Resultate als die intravenöse Versuchsreihe. Das Ödemprotein der Haut konnte um 63 %, bei einem Wert von $0,73 \pm 0,21$ (SE) mg/g Trockengewicht und $p < 0,08$ vermindert werden. Die Senkung des Ödemproteins im Muskel betrug 53 %, bei $4,72 \pm 0,58$ (SE) mg/g Trockengewicht und $p < 0,001$. Die wesentlich bessere Wirkung der oralen gegenüber der intravenösen Gabe von HR beim Ödemprotein des Muskels verdeutlicht der statistische Test mit $p < 0,01$. Bei der Haut kam es nicht zu diesen krassen Unterschieden. Gesamt gesehen wirkte die 10-fach höhere Dosis, oral appliziert, stärker als die intravenöse Dosis, was für eine höhere Absorptionsrate als 10 % sprechen würde.

Im Vergleich zu der 10-fach höheren Akutdosis, erbrachte die subakute Versuchsreihe, bei der 4 Tage lang 20 mg HR/kg KG gegeben wurde, beim Flüssigkeitsgehalt des Ödems keine Verbesserung. Die Ödemflüssigkeit in der Haut konnte um 37 %, in der Muskulatur um 35 % vermindert werden und war mit $p < 0,05$ statistisch auffällig gegenüber den Kontrollversuchen. Dabei sank der Gehalt an Ödemwasser in der Haut von $0,48 \pm 0,04$ bei den Kontrollen auf $0,30 \pm 0,07$ ml/g Trockengewicht nach 4×20 mg HR. Beim Muskelge-

webe verminderte HR das Ödemwasser von $0,76 \pm 0,07$ auf $0,50 \pm 0,09$ ml/g Trockengewicht. Gegenüber der intravenösen Dosis in gleicher Höhe zeigte sich somit bereits beim Ödemwasser eine bessere Wirkung.

Der Übertritt des Proteins in Haut und Muskulatur konnte durch die 4-Tage Gabe von HR noch stärker als durch die 10-fach höhere Akutdosis gesenkt werden. Die Ergebnisse bei der intravenösen Gabe von 20 mg HR/kg KG wurden sogar um ein Mehrfaches verbessert. Das Ödemprotein in der Haut konnte nämlich um 80 % bei $p < 0,03$, das Ödemprotein im Muskel um 58 % bei $p < 0,0001$ gemindert werden. Dabei wurde das Ödemprotein in der Haut von $1,93 \pm 0,33$ bei den Kontrollen auf $0,40 \pm 0,19$ mg/g Trockengewicht verringert, das Ödemprotein des Muskels von $10,01 \pm 0,41$ auf $4,21 \pm 0,37$ mg/g Trockengewicht. Die besten Ergebnisse der Versuchsreihe mit HR konnten somit eindeutig mit der 4-Tage Gabe von 20 mg/kg KG peroral erzielt werden. Aufgrund dieser Dosierung konnte das Ödemwasser in Haut und Muskulatur in etwa gleicher Stärke vermindert werden. Das Ödemprotein wurde, wie auch in früheren Versuchen in der Haut noch stärker als im Muskel gesenkt.

Zum Vergleich sind die Ergebnisse aller Versuchsreihen mit HR in Tabelle 5 und Abbildung 13 dargestellt.

Venentonisierung

Eine Tonisierung der Venen und damit eine Änderung des Venenvolumens konnte nach intravenöser Gabe von 20 mg HR/kg KG nicht festgestellt werden.

Tabelle 5: Protektive Wirkung von HR bei i.v. und oraler Applikation am Etacrynsäureödem im Hinterlauf der Katze

	n		Haut		Muskel	
			Wasser	Protein	Wasser	Protein
Kontrolle	16	$\bar{x}$	0,48	1,99	0,76	10,01
		SE	0,04	0,33	0,07	0,41
20 mg/kg i.v.	5	$\bar{x}$	0,62	0,95	0,73	8,35 ^c
		SE	0,18	0,13	0,31	0,62
		Mind. in %		53	4	17
200 mg/kg oral	5	$\bar{x}$	0,38	0,73 ^a	0,26 ^d	4,72 ^e
		SE	0,06	0,21	0,27	0,58
		Mind. in %	22	63	66	53
20 mg/kg oral für 4 Tage	5	$\bar{x}$	0,30	0,40 ^b	0,30 ^c	4,21 ^e
		SE	0,07	0,19	0,09	0,37
		Mind. in %	37	80	35	58

^a_p<0,08 ^b_p<0,03 ^c_p<0,05 ^d_p<0,01 ^e_p<0,0001

Wasser: ml/g Trockengewicht

Protein: mg/g Trockengewicht

Blutdruckwirkung

Nach intravenöser Applikation von 20 mg HR/kg KG kam es nur zu einer geringfügigen Senkung des arteriellen Blutdruckmittelwerts. Die Verringerung des Blutdrucks betrug im Mittel 6,8 %. Diese Reaktion hielt nur wenige Minuten lang an.

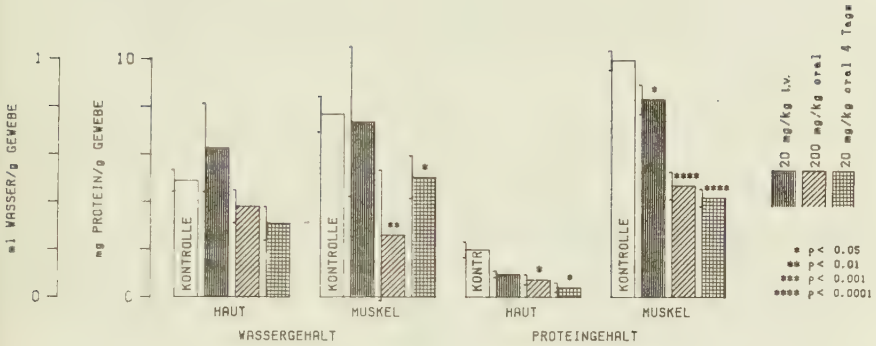


Abb. 13: Protektive Wirkung von HR

Präkapillärer Widerstand

Eine von den Kontrollen abweichende, stärkere Änderung des präkapillären Widerstandes und damit des arteriellen Perfusionsdruckes während der Ödementwicklung, ließ sich nur bei der 4-Tage-Vorbehandlung mit 20 mg HR/kg KG erkennen. Der arterielle Perfusionsdruck stieg hier in den auf die Schädigungsphase folgenden 45 Minuten bei Blutperfusion um 68 % an, bei den Kontrollversuchen lag der Anstieg bei 109 %. Damit korreliert der geringere Anstieg des Perfusionsdruckes nach 4 x 20 mg HR/kg KG mit der guten Wirkung nach dieser Versuchsreihe.

Entwicklung des Ödems

Ödemeiweiß und Wasser wurden 45 Minuten nach Abschluß der Schädigungsphase bestimmt. Dieser Zeitpunkt wurde willkürlich gewählt. Die Ödementwicklung war bei den Kontrollen weitgehend beendet, nicht aber bei den Verumversuchen.

Vergleicht man die Menge des Perfusats, das während der Schädigung aufgefangen und gemessen wurde, bei Kontrollen und 4 x 20 mg HR/kg KG, so zeigt sich, daß bei 4 x 20 mg HR/kg KG von den durchspülten 50 ml Etacrynsäure und 50 ml NaCl nur insgesamt 4 ml in der Extremität zurückblieben. Bei den Kontrollversuchen lagen diese Mengen im Mittel bei 12,12 ml. Die Ergebnisse waren mit $p < 0,04$ statistisch signifikant. Diese erheblichen Unterschiede konnten innerhalb aller oralen Versuchsreihen nur im 4-Tage-Versuch mit HR aufgezeigt werden.

Die übrigen Versuchsreihen mit oraler Applikation des ödemprotektiven Pharmakons ergaben in der Regel nach der Schädigung durch Etacrynsäure die gleiche Menge an zurückgebliebener Flüssigkeit in der Extremität, wie bei den Kontrollversuchen. So lag bei 200 mg HR/kg KG diese Menge auch bei 12,5 ml im Mittel.

Nach intravenöser Gabe von 20 mg HR/kg KG verringerte sich die Flüssigkeitsmenge, die in der Extremität verblieb, auf 11,0 ml im Durchschnitt. Hier wird das Verhalten der ödemprotektiven Pharmaka nach intravenöser Applikation deutlich. Die ödemprotektive Wirkung setzt nach intravenöser Gabe bereits während der Schädigung durch Etacrynsäure ein. Entsprechend dem verhältnismäßig geringen ödemprotektiven Effekt von 20 mg HR/kg KG intravenös, ist die Verminderung in der verbleibenden Flüssigkeitsmenge nach der Schädigung im Vergleich zu den Kontrollversuchen gering.

Eine vergleichende Zusammenstellung dieser Ergebnisse zeigen Tabelle 6 und Abbildung 14.

Tabelle 6: Vergleich der Flüssigkeitsmenge bei ödemprotektiver Gabe von HR, die

a) während der Schädigung mit Etacrynsäure

b) während der letzten 45 Minuten Blutperfusion im Hinterlauf der Katze verblieben.

	n		Gesamt-ml	a)	b)
Kontrolle	16	$\bar{x}$	20,45	12,12	8,33
		SE	1,99	1,78	0,69
20 mg/kg i.v.	5	$\bar{x}$	27,43	11,00	10,43
		SE	1,89	4,78	1,64
200 mg/kg oral	5	$\bar{x}$	21,74	12,50	11,24
		SE	5,46	2,98	2,07
20 mg/kg/Tag für 4 Tage oral	5	$\bar{x}$	9,84 ^b	4,00 ^a	5,84
		SE	1,18	2,04	1,00

^a $p < 0,05$

^b $p < 0,01$

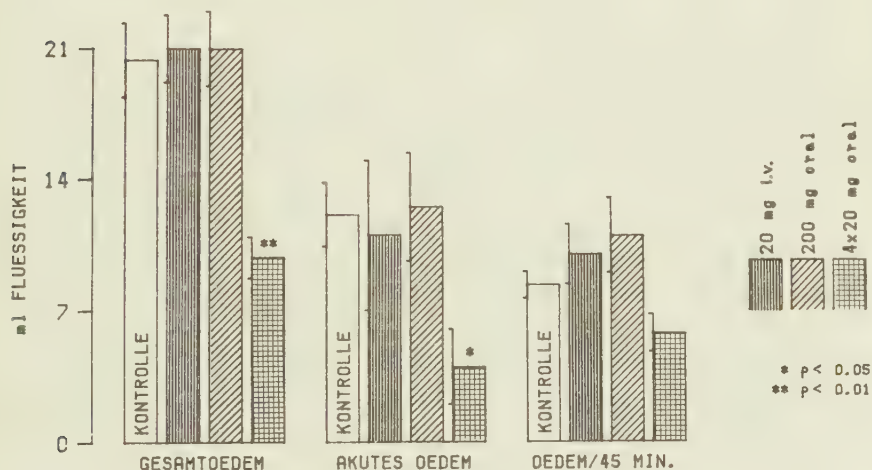


Abb. 14: Vergleich der Flüssigkeitsmengen bei ödemprotektiver Gabe von HR, die sich akut bei der Schädigung und bei der anschließenden Blutperfusion bildeten.

5.4. Ruscogenin

5.4.1. Intravenöse Anwendung

Ruscogenin wurde intravenös in einer Dosis von 4 mg/kg KG appliziert. Das Pharmakon wurde in Polyäthylenglycol 2 %-ig gelöst.

Ruscogenin konnte den Übertritt von Ödemwasser in das Gewebe geringfügig vermindern. Mit 4 mg Ruscogenin/kg KG i.v. wurde der Flüssigkeitseinstrom in die Haut um 16 %, in die Muskulatur um 36 % herabgesetzt. Die Ergebnisse waren jedoch nicht signifikant.

Die Beeinträchtigung des Ödemproteins fiel dagegen eindeutig aus. 4 mg Ruscogenin/kg KG i.v. konnten in der Haut das Ödemprotein um 70 %, in der Muskulatur um 52 % ($p < 0,05$) senken.

5.4.2. Orale Anwendung

Oral wurden 20 und 80 mg/kg KG gegeben, und zwar wieder 4 Stunden vor der Ödemerzeugung.

Nach oraler Gabe von 20 mg Ruscogenin/kg KG wurde das Ödemwasser in der Haut um 36 %, in der Muskulatur um 28 % im Mittel ausgeschwemmt. 80 mg/kg KG wirkten nicht stärker, sondern eher schwächer. Die Ergebnisse lagen bei der Haut sogar über den Kontrollwerten, beim Muskel waren die Flüssigkeitsmengen im Bereich der Kontrollversuche. Das Wirkungsoptimum von Ruscogenin lag also bei 20 mg/kg KG.

Im Hinblick auf eine Beeinflussung des Ödemproteins erzielten wir ebenfalls mit 20 mg Ruscogenin/kg KG die besten Ergebnisse dieser Versuchsreihe. Das Ödemprotein

der Haut konnte um 51 %, das des Muskels um 57 % der Kontrollausgangswerte gesenkt werden, wobei letzterer Wert mit $p < 0,002$ statistisch signifikant ist. 80 mg Ruscogenin/kg KG wirkten schwächer. Nur im Muskel konnte das Ödemprotein um 33 % vermindert werden, bei $p < 0,001$. Die Ergebnisse bei der Haut lagen im Bereich der Kontrollversuche.

Die Dosissteigerung von 20 auf 80 mg/kg KG brachte schlechtere Ergebnisse. Die i.v. Gabe von 4 mg/kg KG wirkte etwa ebenso stark wie 20 % der oral gut wirksamen Dosis. Beim Ödemprotein im Muskel waren der oralen Dosis vergleichbare, beim Ödemprotein der Haut sogar bessere Ergebnisse zu sehen. Somit könnte nach der Beeinflussung des Ödems in Haut und Muskulatur die Absorption nach oraler Applikation um 20 % liegen.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse zeigen Tabelle 7 und Abbildung 15.

Peripherer Widerstand

Ebensowenig beeinflusste Ruscogenin den peripheren Widerstand. Der Perfusionsdruck stieg während der 45 Minuten Blutperfusion nach der Schädigung um 108 % an, ebenso stark wie bei den Kontrollen.

Bei den oralen Versuchsreihen zeigte sich nach 20 mg Ruscogenin/kg KG keine Änderung des Perfusionsdrucks. Nach 80 mg Ruscogenin/kg KG stieg der periphere Widerstand in den letzten 45 Minuten mit Blutperfusion nur um 12 % an, bei den Kontrollen um 109 %. Dieses Ergebnis würde für die ödemprotektive Eigenschaft des Ruscogenin sprechen.

Tabelle 7: Protektive Wirkung von Ruscogenin bei i.v. und oraler Applikation am Etacrynsäureödem im Hinterlauf der Katze

			Haut		Muskel	
			Wasser	Protein	Wasser	Protein
Kontrolle	16	$\bar{x}$	0,48	1,99	0,76	10,01
		SE	0,04	0,33	0,07	0,41
4 mg/kg	5	$\bar{x}$	0,41	0,59	0,49	4,72 ^a
i.v.		SE	0,12	0,47	0,02	1,27
	Mind. in %		16	70	36	52
20 mg/kg	5	$\bar{x}$	0,31	0,97	0,55	4,32 ^a
oral		SE	0,16	0,27	0,03	0,25
	Mind. in %		35	51	28	57
80 mg/kg	5	$\bar{x}$	0,98	2,13	0,72	6,75 ^b
oral		SE	0,27	0,80	0,22	0,69
	Mind. in %				6	33

^a $p < 0,01$

^b $p < 0,001$

Wasser: ml/g Trockengewicht

Protein: mg/g Trockengewicht

Venentonisierung

Eine Venentonisierung konnte nach i.v. Applikation von Ruscogenin nicht beobachtet werden. Die Kapazität des Beinvenenvolumens änderte sich nicht.

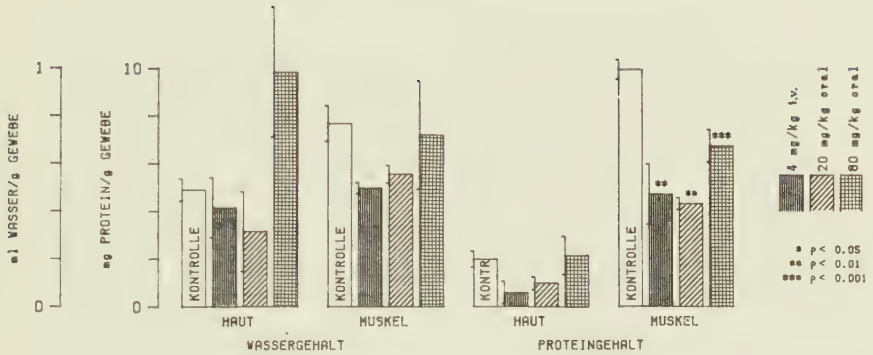


Abb. 15: Protektive Wirkung von Ruscogenin

Blutdruckwirkung

4 mg Ruscogenin/kg KG i.v. erhöhten den systemischen Blutdruck um 36 %. Dieser Anstieg hielt jedoch nur einige Minuten lang an. Damit war Ruscogenin das einzige Pharmakon der Versuchsreihe, das eine kurzfristige Blutdrucksteigerung hervorrief.

5.5. Di-O-Diphenylmethylen 3', 4' (+)-catechin (GCP-52)

5.5.1. Intravenöse Anwendung

GCP-52 wurde intravenös, gelöst in Polyäthylenglycol, bei Anwendung einer Dosis von 20 mg/kg KG untersucht. Nach intravenöser Gabe von GCP-52 konnte der Gehalt an Ödemwasser in der Muskulatur stärker als in der Haut gesenkt werden. 20 mg GCP-52/kg KG i.v. senkten den Wasserübertritt ins Interstitium der Haut um 20 %, von 0,48 auf 0,39 ml/g Trockengewicht im Mittel. Bei der Muskulatur betrug die Verminderung 55 %, von 0,76 auf 0,34 ml/g Trockengewicht im Mittel. Hierbei waren die Ergebnisse mit $p < 0,03$ statistisch signifikant.

Die Beeinflussung des Ödemproteins der Haut war bei den Versuchsreihen mit GCP-52 wesentlich stärker als die des Ödemproteins der Muskulatur. 20 mg GCP-52/kg KG i.v. minderten das Ödemprotein der Haut um 93 % von 1,99 auf 0,13 mg/g Trockengewicht ($p < 0,05$), das der Muskulatur um 50 % von 10,01 auf 5,0 mg/g Trockengewicht ($p < 0,005$) im Mittel.

5.5.2. Orale Anwendung

Da bei den fettlöslichen Pharmaka von einer höheren Absorption als bei den wasserlöslichen ausgegangen wurde, führten wir die oralen Versuche mit 40 mg GCP-52/kg KG durch. Dabei wurde wiederum eine Vorbehandlungszeit von etwa vier Stunden eingehalten.

Nach oraler Gabe von GCP-52 konnte der Gehalt an Ödemwasser in der Haut erheblich stärker als im Muskel gesenkt werden. In der Haut betrug die Ödemminderung 53 %, von 0,48 auf 0,22 ml/g Trockengewicht ($p < 0,005$), in der Muskulatur 11 % von 0,76 auf 0,68 ml/g Trockengewicht im Mittel.

Die Reduzierung des Ödemproteins der Haut lag bei 83 % ($p < 0,05$), von 1,99 auf 0,32 mg/g Trockengewicht. Beim Muskel konnte eine Verminderung um 18 % von 10,01 auf 8,20 mg/g Trockengewicht erreicht werden.

Auffallend war die starke Wirkung auf die Haut. Mit GCP-52 konnten beim Ödemprotein der Haut die besten Ergebnisse der gesamten Versuchsreihe erzielt werden. Nach oraler Applikation konnte nur der Ödemgehalt in der Haut signifikant vermindert werden. Die Reduzierung des Ödems beim Muskel war unwesentlich. Als einzige Substanz der untersuchten Pharmaka verringerte GCP-52 oral mit 40 mg/kg KG den Flüssigkeitsgehalt der Haut in signifikanter Weise. Nach i.v. Gabe von 20 mg GCP-52/kg KG kam es neben einer Senkung des Ödemproteins der Haut auch zu einer Verringerung der Ödemflüssigkeit und des Ödemproteins in der Muskulatur über 50 %.

Eine Zusammenstellung dieser Ergebnisse zeigen Tabelle 8 und Abbildung 16.

Tabelle 8: Protektive Wirkung von GCP-52 bei i.v. und oraler Applikation am Etacrynsäureödem im Hinterlauf der Katze.

	n		Haut		Muskel	
			Wasser	Protein	Wasser	Protein
Kontrolle	16	$\bar{x}$	0,48	1,99	0,76	10,01
		SE	0,04	0,33	0,07	0,41
20 mg/kg	5	$\bar{x}$	0,39	0,13 ^b	0,34 ^a	5,00 ^c
i.v.		SE	0,07	0,19	0,13	0,21
		Mind. in %	20	93	55	50
40 mg/kg	5	$\bar{x}$	0,22 ^c	0,32 ^a	0,68	8,20
oral		SE	0,01	0,16	0,03	1,71
		Mind. in %	53	83	11	18

^a $p < 0,05$

^b $p < 0,03$

^c $p < 0,005$

Wasser: ml/g Trockengewicht

Protein: mg/g Trockengewicht

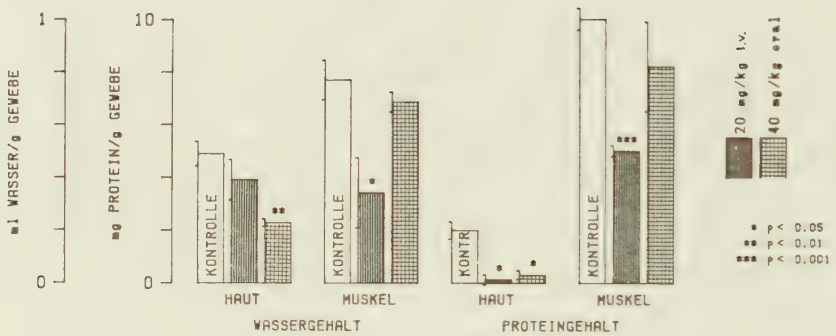


Abb. 16: Protektive Wirkung von GCP-52

Blutdruckwirkung, Venentonisierung und peripherer Widerstand

Die i.v. Applikation von GCP-52 beeinflusste den Blutdruck nicht, ebensowenig den Venentonus. Eine Änderung des Perfusionsdrucks konnte nach 20 mg GCP-52 i.v. ebenfalls nicht registriert werden.

5.6. Clobenosid

Da von früheren Versuchsreihen eine ödemprotektive Wirkung des Clobenosid bei einer Dosis von 20 mg/kg KG oral, 4 Stunden vor der Ödemerzeugung durch Etacrynsäure, bekannt war (Ruppert, 1982) wählten wir, ausgehend von einer 50 %-igen Absorption, zum weiteren Vergleich eine Dosis von 10 mg Clobenosid/kg KG i.v. Hierbei zeigte sich, daß Clobenosid eine besonders starke Wirkung auf den Gehalt an Protein im Muskel auszuüben vermag. Es ergab sich eine Senkung des Ödemproteins im Muskel um 80 % der Kontrollausgangswerte, die mit $p < 0,0001$ statistisch hoch signifikant waren. Die Minderung des Ödemproteins in der Haut betrug 42 %. Der Gehalt an Ödemwasser änderte sich unter Clobenosid nicht. Die Werte kommen den Kontrollen nahe. Mit Clobenosid konnten wir das Ödemprotein der Muskulatur am stärksten im Vergleich zu den anderen Versuchsspharmaka senken. Jedoch blieb dieser mindernde Effekt in Bezug auf die Ödemflüssigkeit aus.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse ist in Tabelle 9 und Abbildung 17 dargestellt.

Tabelle 9: Protektive Wirkung von Clobenosid bei i.v. Applikation am Etacrynsäureödem im Hinterlauf der Katze

	n		Haut		Muskel	
			Wasser	Protein	Wasser	Protein
Kontrolle	16	$\bar{x}$	0,48	1,99	0,76	10,01
		SE	0,04	0,33	0,07	0,41
10 mg/kg	5	$\bar{x}$	0,60	0,84	0,64	2,07 ^a
		SE	0,03	0,20	0,10	0,76
		Mind. in %		42	16	80

^a $p < 0,0001$

Wasser: ml/g Trockengewicht

Protein: mg/g Trockengewicht

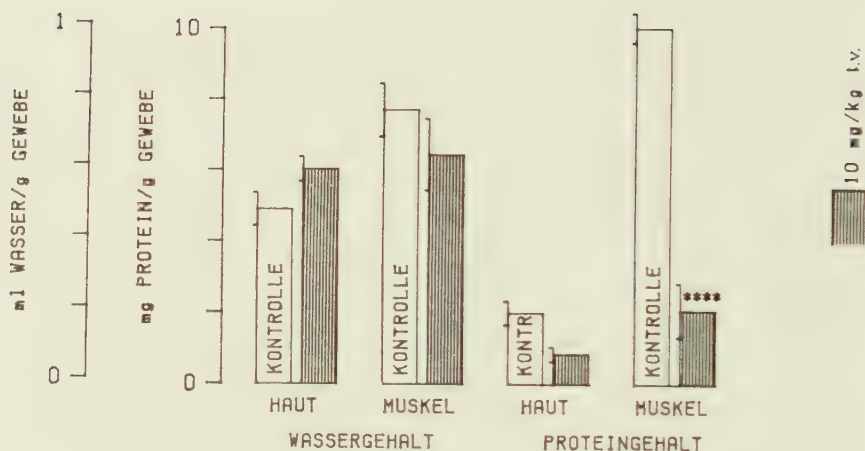


Abb. 17: Protektive Wirkung von Clobenosid

**** $p < 0,0001$

Blutdruckwirkung: Nach intravenöser Gabe von Clobenosid erfolgte ebenfalls eine kurzfristige Senkung des Blutdruckmittelwertes um 14 %.

Venentonisierung: Eine Venentonisierung konnte nicht festgestellt werden.

Peripherer Widerstand

Der Perfusionsdruck stieg mit 98 % etwas geringer als bei den Kontrollversuchen (109 %) an.

Vom Perfusat nach der Schädigungsphase blieben bei Clobenosid im Mittel nur 3,3 ml der Gesamtmenge von 100 ml im Gewebe zurück. Bei den Kontrollen blieben im Mittel 12,12 ml als Rest im Bein. Damit ist die Ödembildung besonders in der Phase der Beinschädigung verhindert worden.

5.7. Dosis-Wirkungs-Vergleich der ödemprotektiven Pharmaka

Der Vergleich der untersuchten Pharmaka bei gleicher Dosierung und Applikation ergab folgende Unterschiede:

Bei einer Dosis von 10 mg/kg KG, bei intravenöser Applikation, ergab sich eine erheblich stärkere ödemprotektive Wirkung des Clobenosid gegenüber dem TMHC. Bei der Beeinflussung des Ödemproteins im Muskel, das mit Clobenosid am stärksten innerhalb der gesamten Versuchsreihe vermindert werden konnte, war der Unterschied zu TMHC mit $p < 0,02$ statistisch signifikant. Der Einfluß auf die Ödemflüssigkeit war bei beiden Substanzen nicht wesentlich.

Eine Gegenüberstellung zeigt Abbildung 18.

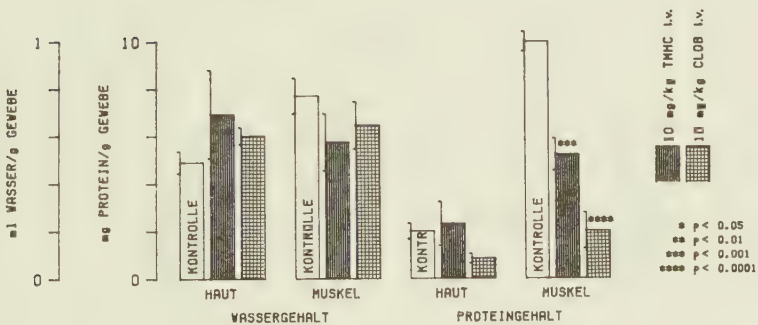


Abb. 18: Dosis-Wirkungs-Vergleich bei 10 mg/kg KG i.v.

Bei einer Dosis von 20 mg/kg KG i.v. konnten Vergleiche zwischen TMHC, GCP-52 und HR durchgeführt werden. Dabei hatte TMHC die stärkste ödemprotektive Wirkung auf das Ödemprotein im Muskel. Somit erreichte das wasserlösliche TMHC bessere Ergebnisse als das fettlösliche GCP-52, dieses wiederum bessere Ergebnisse als das wasserlösliche HR. Die unterschiedlichen Wirkungsstärken waren statistisch signifikant.

Die Beeinflussung der Ödemflüssigkeit der Muskulatur zeigte bei GCP-52 leicht bessere Resultate als bei TMHC und erheblich niedrigere Werte als bei HR.

Das Ödemprotein in der Haut wurde von GCP-52 deutlich stärker vermindert als bei den Vergleichssubstanzen, wobei HR noch etwas günstiger als TMHC abschneiden konnte. Damit fällt bei TMHC die gute Wirkung auf das Ödemprotein des Muskels auf. GCP-52 kann die gleichfalls eindeutige Muskelwirkung auch auf das Ödemprotein der Haut erweitern. HR verminderte lediglich das Ödemprotein der Haut deutlich. Bei 20 mg/kg KG i.v., dem Wirkungsoptimum von TMHC, lag das fettlösliche GCP-52 beim Ödemprotein des Muskels zwar unter den Ergebnissen des TMHC, hatte aber durch die intensive Minderung des Ödemproteins der Haut eine optimale Wirkungsweise.

Eine vergleichende Gegenüberstellung zeigen Tabelle 10 und Abbildung 19.

Tabelle 10: Dosis-Wirkungs-Vergleich bei 20 mg/kg KG i.v.

ansteigende Ödemwerte →

Haut - Wasser	TMHC	GCP-52	Kontrolle	HR
Protein	GCP-52	HR	TMHC	Kontrolle
Muskel - Wasser	GCP-52	TMHC	HR	Kontrolle
Protein	TMHC	GCP-52	HR	Kontrolle

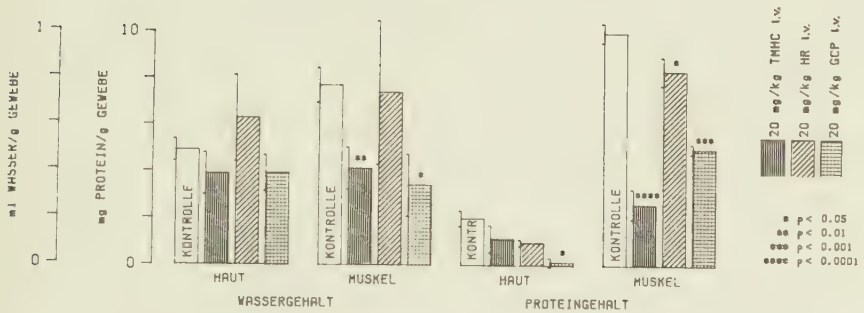


Abb. 19: Dosis-Wirkungs-Vergleich bei 20 mg/kg KG i.v.

Die oral durchgeführten Versuchsreihen erlaubten einen Dosis-Wirkungs-Vergleich zwischen den wasserlöslichen Substanzen TMHC und HR bei 100 mg/kg KG. Die Hemmung des Ödemproteins im Muskel ist bei TMHC um 10 % höher als bei HR. Jedoch vermag HR auch das Ödemprotein der Haut um 63 % erheblich zu senken, was mit TMHC nicht gelang.

TMHC konnte ebenfalls die Ödemflüssigkeit nicht senken, bot sogar höhere Werte als die Kontrollversuche. HR dagegen verminderte die Ödemflüssigkeit in ausgeprägtem Maße. Dies wurde besonders bei der Ödemflüssigkeit der Muskulatur deutlich, die um 66 % vermindert werden konnte.

HR war beim Dosisvergleich nach intravenöser Applikation dem TMHC eindeutig unterlegen. Beim Vergleich nach oraler Gabe ergibt sich jedoch die Umkehrung der Wirkungsstärke. HR minderte bei 200 mg/kg KG oral das erzeugte Ödem weitaus stärker als TMHC. Lediglich beim Ödemprotein im Muskel konnte mit TMHC eine Ödemminderung erzielt werden. Dies dürfte eine weitere Bestätigung dafür sein, daß HR nach oraler Applikation zu besseren Ergebnissen führt.

Den Dosis-Wirkungs-Vergleich nach oraler Applikation von 200 mg/kg KG zeigt Abbildung 20.

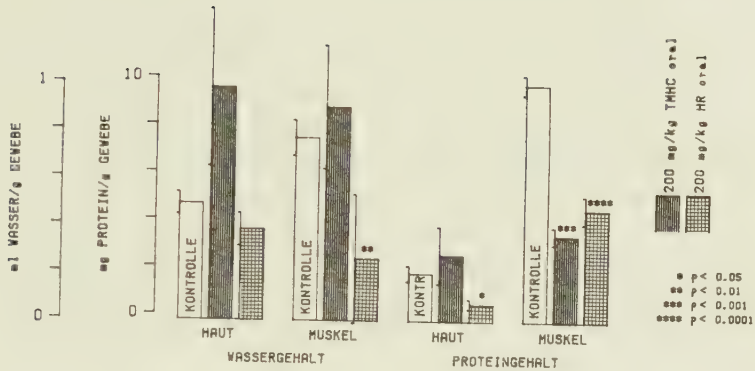


Abb. 20: Dosis-Wirkungs-Vergleich bei 200 mg/kg KG oral

Interessant ist ferner, daß HR nach 4 Tagen mit 20 mg/kg KG oral gegeben durch seine mehrfache Wirkung mit statistisch signifikanten Ergebnissen beim Ödemprotein der Haut, der Ödemflüssigkeit und dem Ödemprotein des Muskels weitaus besser als die einmalige Applikation von 20 mg HR/kg KG i.v. abschneidet. Auch dem Vergleich mit TMHC und GCP-52 kann die 4 Tage HR-Dosis bei 20 mg/kg KG standhalten.

6. Diskussion

Alle verwendeten Pharmaka hatten in früheren Untersuchungen (Gabor 1978, Hammersen und Möhring 1968, Felix 1978, Formanek und Höller 1960, Gulati 1980) ödemprotektive Wirkungen auf entzündliche Ödeme gezeigt. Der Großteil dieser Versuche erfolgte mit intravenöser und intraperitonealer Applikation. Damit war eine Überprüfung der Wirksamkeit nach oraler Gabe wichtig. Zudem war ein Vergleich von TMHC und HR als wasserlösliche Substanzen gegenüber den fettlöslichen Pharmaka Ruscogenin, GCP-52 und Clobenosid von Interesse. Die Annahme einer Unspezifität der Wirkung könnte sich bei einem Einfluß auf Ödeme nicht-entzündlicher Art bestätigen.

Um nachzuprüfen, ob auch nichtentzündliche Ödeme durch unsere Versuchsspharmaka gehemmt werden, bedienten wir uns zur Endothelschädigung der Etacrynsäure (Hydromedin^R). Nur bei Beeinflussung nichtentzündlicher Reaktionen ist es berechtigt, von einer ödemprotektiven Wirkung zu sprechen, die umfassender ist, als ein rein antiphlogistischer Effekt.

Die Annahme, daß die Ödeme, die durch Etacrynsäure entstehen, nichtentzündlicher Natur sind, wurde von Hammersen und Hammersen (1983) bestätigt. Dabei ergaben sich beim unbehandelten Ödem folgende Befunde:

Bei den Gefäßveränderungen fiel auf, daß nicht nur kleinere und kleinste Venulen, sondern selbst Kapillaren betroffen waren. Dies spricht für die nichtentzündliche Entstehungsart des Etacrynsäureödems. Ein weiterer Befund, der diese Annahme erhärtet, ist die Tatsache, daß niemals typische interendotheliale Lücken ("gaps") auftraten, wie sie für fast alle entzündlichen Ödeme charakteristisch sind (Hammersen 1972). Neben einer starken

Abflachung des Endothels mit Ausbildung tiefer Invaginationen der luminalen Zellmembran, war jedoch besonders auffallend beim Etacrynsäureödem das Auftreten wechselnd großer, blasenförmiger Vortreibungen des endothelialen Plasmalemms, die ausschließlich lumenwärts gerichtet waren. Die so entstandenen Endothel-"blasen" setzten nach Auflösung der Außenmembran den ödematösen Inhalt in das Lumen frei. Somit ist das Etacrynsäureödem nach den Untersuchungen von Hammersen und Hammersen (1983) als nicht-entzündliches Ödem zu betrachten.

Wir haben die Wirkungsstärke der Pharmaka an Hand der ödematösen Wirkung der Etacrynsäure bestimmt. Dabei wurde deutlich, daß besonders die Muskelstrombahn geschädigt wurde. Die geschädigte Extremität enthielt das 7-fache an Protein im Muskel der Kontroll Extremität. Die Zunahme des Proteingehalts in der Haut war mit einer Erhöhung um 67,3% mehr als ein 10-faches geringer als bei der Muskulatur. Die Vermehrung der Flüssigkeitsmenge war mit 32% beim Muskel und 26% bei der Haut wiederum wesentlich niedriger als die Zunahme des Proteingehalts. Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung der guten Beeinflussung der Verminderung des Proteingehalts im Muskel durch unsere Versuchsspharmaka. Andererseits verdient dadurch die bei einem Teil der untersuchten Pharmaka vorgefundene erhebliche Minderung des Ödemproteins in der Haut und der Ödemflüssigkeit besondere Beachtung. Möglicherweise ist der mindernde Einfluß auf das Ödemprotein im Muskel, der ja von jedem unserer Pharmaka nach oraler und intravenöser Applikation mehr oder weniger erfolgte, aufgrund der außerordentlichen Stärke des Ödemproteins im Muskel, von den Pharmaka leichter zu beeinflussen gewesen.

Weiterhin war der höhere Proteinausgangswert der Haut bei der nicht geschädigten Extremität im Vergleich zur

Muskulatur auffallend gewesen. Er lag bei der Haut im Mittel mit $2,93 \pm 0,28$ mg Plasmaprotein/g Trockengewicht um 42% höher als beim Muskel mit $1,68 \pm 0,10$ mg Plasmaprotein/g Trockengewicht. Daher muß aufgrund des signifikanten Unterschiedes ($p = 0,0002$) im nichtgeschädigten Gewebe davon ausgegangen werden, daß die physiologische Permeabilität der Hautgefäße für Plasmaproteine größer sein muß, als die der Muskelgefäße. In Bezug auf den Flüssigkeitsgehalt ergaben sich die erwarteten Unterschiede. In der Muskulatur ergaben sich 3,09 ml Flüssigkeit/g Trockengewicht, in der Haut mit 1,88 ml/g Trockengewicht deutlich weniger ($p = 0,0001$).

Ödementwicklung

Keines der Pharmaka konnte die Ödementwicklung nach Schädigung durch Etacrynsäure vollständig unterdrücken. Daher ist die Frage nach der Angabe eines Zeitpunkts der Ödementwicklung und damit den Angriffspunkten der ödemprotektiven Wirkung von Interesse. Zum einen begann sich ein Flüssigkeitsödem bereits während der Schädigungsphase zu entwickeln. Hier wurde nur eiweißfreie Flüssigkeit perfundiert. Diese wurde durch die Gefäßschädigung mit Etacrynsäure sofort in das Gewebe filtrierte. Zum anderen konnte sich das Ödem langsamer während der nachfolgenden Blutperfusion über 45 Minuten hin ausbilden. Das Eiweißödem begann sich erst in dieser Phase zu entwickeln. Wir verglichen die Flüssigkeitsmenge, die als Perfusat während der Schädigungsphase aufgefangen und gemessen wurde, mit der Flüssigkeitsmenge, die während der 45 Minuten Blutperfusion im Tier blieb. Bei der statistischen Untersuchung stellten sich folgende Unterschiede heraus:

Die Kontrollversuche ergaben gegenüber der Gesamtzahl an intravenösen Versuchen deutliche Unterschiede in der Flüssigkeitsmenge, die nach Schädigung in der Extremität verblieb. Bei den i.v.-Versuchen war die Flüssigkeitsmenge mit $p < 0,0001$ statistisch signifikant geringer als bei den Kontrollen. Auch bei Gegenüberstellung der i.v.-Versuche mit den oralen Versuchen zeigten sich hierbei die gleichen Unterschiede mit $p < 0,002$.

In Bezug auf den Flüssigkeitseinstrom in das Gewebe während der Schädigungsphase unterschieden sich die oralen Versuche nicht signifikant gegenüber den Kontrollen. Bei einem Vergleich der Flüssigkeitsmenge, die in den letzten 45 Minuten bei Blutperfusion in das Gewebe filtriert wurde, konnten bei den intravenösen und oralen Versuchen gegenüber den Kontrollen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Unterschiede zeigten sich dagegen bei einem Vergleich der Anfangsfiltration nach der Schädigung zwischen oralen und intravenösen Versuchen. Die Anfangsfiltration war ebenfalls, mit $p < 0,07$, bei den i.v.-Versuchen erheblich geringer als bei den oralen Versuchen. Messungen am Ende der Blutperfusion unterschieden sich in Bezug auf die filtrierte Flüssigkeitsmenge nicht mehr.

Die Ergebnisse der mit HR 4 Tage lang vorbehandelten Tiere ergaben, wie die i.v.-Versuche, geringe Mengen an Ödemflüssigkeit, die während der Schädigung im Bein verblieben. Bei den Kontrollen betrug die in der Extremität verbliebene Flüssigkeitsmenge im Mittel 12,12 ml, bei 4×20 mg HR/kg KG lagen die Werte bei 4 ml im Mittel ($p < 0,04$). Damit unterschieden sich diese Ergebnisse von den übrigen oralen Versuchsreihen, bei denen die Ergebnisse im Rahmen der Kontrollen waren. Weiterhin verdeutlichten diese Ergebnisse die Sonderstellung der

4-Tage-Vorbehandlung mit HR. Eine erhebliche Anreicherung von HR an den Gefäßendothelien nach mehrmaliger oraler Gabe könnte den Effekt beim akuten Ödem erklären, der sonst nur nach intravenöser Applikation zu erkennen war.

Eine Zusammenstellung des unterschiedlichen Flüssigkeitseinstroms nach oraler und intravenöser Applikation zeigen die Abbildungen 21 und 22.

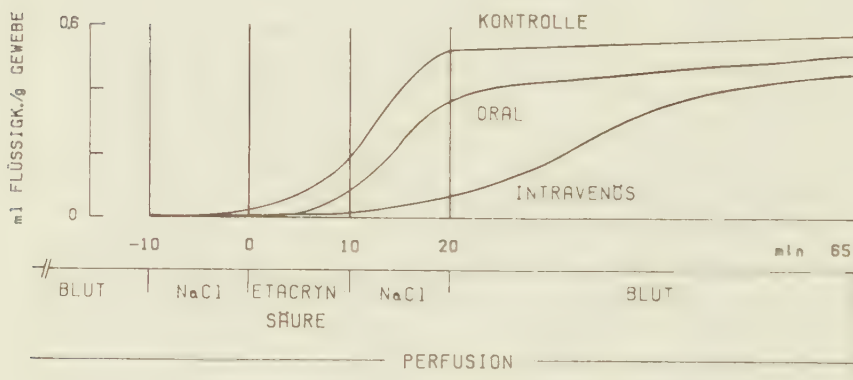


Abb. 21: Vergleich des Flüssigkeitseinstroms nach oraler und i.v.-Gabe der ödemprotektiven Pharmaka.

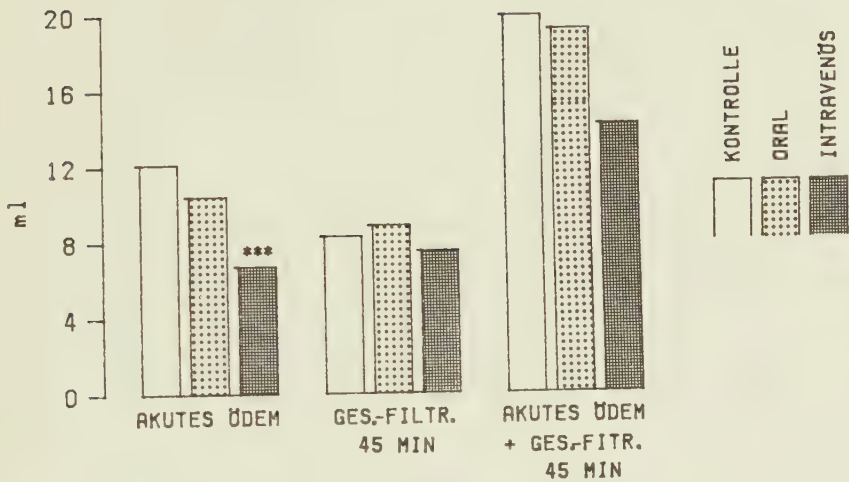


Abb. 22: Gegenüberstellung des akuten Ödems und der Gesamtfiltration nach oraler und i.v.-Gabe der ödemprotektiven Substanzen.

*** $p < 0,001$

Aus der Gesamtheit dieser Resultate lassen sich folgende Schlüsse ziehen: Die völlige Verhinderung eines Ödems war mit den untersuchten Pharmaka nicht möglich. Je nach Applikation und Dosis der Substanzen bildete sich ein unterschiedlich starkes Ödem aus. In Bezug auf den Zeitpunkt der Ausbildung des Ödems konnten folgende Unterschiede festgestellt werden:

1. Bei intravenöser Applikation der untersuchten Pharmaka kam es zum ödemprotektiven Effekt durch speziellen Schutz des Gefäßendothels. Der Schutz reichte aus, daß während der Schädigung nicht sofort Flüssigkeit in das Gewebe abfiltriert wurde. Der Unterschied zu den Kontrollen ist statistisch signifikant. Im Laufe der anschließenden Blutperfusion kam es je nach Wirkungsstärke des Pharmakons zur Ausbildung eines Ödems.

2. Die oralen Versuchsreihen unterschieden sich in Bezug auf die Flüssigkeitsmenge, die nach der Schädigung im Tier blieb und während der Blutperfusion filtriert wurde, nicht signifikant zu den Kontrollversuchen. Hier muß der ödemprotektive Wirkungsmechanismus darauf beruhen, daß die Pharmaka bereits im Gewebe hafteten und dort ihre Wirkung entfalteten.

3. Nach einer 4 Tage-Vorbehandlung oral mit 20 mg HR/kg KG bildete sich, zusätzlich zum Wirkungsmechanismus der oralen Versuche, wie bei den i.v.-Versuchen, ein Schutz des Gefäßendothels aus. Daher blieb auch bei dieser Versuchsreihe nur wenig Flüssigkeit nach der Schädigungsphase in der Extremität zurück. Das schwache Flüssigkeitsödem entstand durch Filtration in den nachfolgenden 45 Minuten Blutperfusion.

TMHC

Tri-Methyl-Hesperidin-Chalkon vermag das Etacrynsäure-ödem statistisch signifikant zu hemmen. Die Wirkung von TMHC auf Ödeme entzündlicher Genese, wie das Dextran- und Carrageeninödem bei der Ratte, wurde mehrfach bestätigt (Gabor 1979, Hammersen und Möhring 1968). Winder et al. (1958) fanden eine Verminderung eines durch UV-Strahlen induzierten Ödems durch TMHC.

TMHC wird seit Jahren als Bestandteil verschiedener Medikamente bei der Behandlung der chronischen Veneninsuffizienz therapeutisch eingesetzt (Weidmann 1975). Untersuchungen der Medikamente auf ihre Wirksamkeit und klinische Doppelblind-Studien ergaben die Beweise für die gute Beeinflussung der chronischen Veneninsuffizienz (Kappenberg 1972, Neumann-Mangoldt 1979, Klemm 1979, Voelkel 1953).

Nach unseren Ergebnissen vermindert TMHC auch ein Ödem nichtentzündlicher Entstehungsart. Bei Gegenüberstellung der Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen fällt insbesondere folgendes auf:

1. Das Ausmaß der Ödemminderung ist deutlich dosisabhängig. Bei 20 mg TMHC/kg KG i.v. zeigt sich ein Wirkungsgipfel, eine Dosiserhöhung auf 50 mg/kg KG bringt wesentlich schlechtere Ergebnisse.
2. Die Wirkungen auf den Muskel sind stärker als auf die Haut.
3. Die orale Gabe von TMHC ergibt nur beim Muskelprotein eine signifikante Ödemhemmung.

Flüssigkeits- und Proteingehalt von Haut und Muskulatur wurden durch 20 mg TMHC/kg KG i.v. stärker gesenkt als bei Gabe von 50 mg/kg KG i.v. Dies bedeutet, daß bereits relativ kleine Mengen von TMHC zur ödemprotektiven Wirkung ausreichend sind. Dieser Wirkungsgipfel läßt ferner die Diskussion darüber zu, ob ab einer bestimmten Dosis ein Sättigungsgrad für TMHC erreicht wurde und eine weitere Dosissteigerung gegenteilige Effekte auslösen kann. Unsere Ergebnisse sprechen für diese Annahme.

Verschiedene Autoren (Gabor 1968, Hofmeister 1970, Lutomski 1972) sprechen TMHC eine kapillarabdichtende Wir-

kung zu. Dadurch wird die Permeabilität für Plasmaproteine durch die Membranen vermindert (Tarayre 1977, Estler 1971, Ring 1976, 1983). Ein indirekter Wirkungsmodus könnte dadurch gegeben sein, daß die Flavonoide das Enzym Hyaluronidase hemmen können (Lutowski 1972). Die Hyaluronidase macht die Kapillarmembran durch hydrolytischen Abbau der perikapillären Matrix durchgängig (Chambers 1947, Estler 1971). Französische Autoren (Übersicht bei Hofmeister 1970) diskutieren eine Aktivierung und Stabilisierung des im Körper wirksamen Adrenalin durch die Flavonoide.

Hofmeister diskutierte u.a. folgenden Wirkungsmechanismus der Flavonoide. Die weitgehend akzeptierte Ansicht, daß der Stoffaustausch durch die Kapillarwand den Gesetzen des "aktiven Transports" gehorcht, läßt es erklärlich erscheinen, daß alle Faktoren, die einen solchen aktiven Transport verhindern, die Kapillarpermeabilität herabsetzen. In der Membran fixierte Enzyme, die als Vehikel der zu transportierenden Substanzen dienen, bewerkstelligen den sog. aktiven Transport. An Innen- und Außenseite der Membran wirken je ein Enzym zusammen. Die Flavonoide können als starke Inhibitoren für das Enzym an der Außenseite ihre Wirkung entfalten. Zu diesen Überlegungen führten Ergebnisse mit Phloretin, das den Flavonoiden in der Wirksamkeit vergleichbar ist. Havsteen (1980) sieht die Wirkungen der Bioflavonoide als Resultat aus der Enzymhemmung, der Membranaktivierung und der Permeabilitätsbeeinflussung an. Man kann davon ausgehen, daß all diese Mechanismen Haut und Muskelgewebe in annähernd gleicher Weise betreffen, unter Berücksichtigung der stärkeren Muskeldurchblutung. Die bessere Wirkung von TMHC auf das Ödem des Muskels als auf das der Haut, veranlaßt zu weiteren Überlegungen über den Wirkungsmechanismus. Wie erwähnt, erzeugt Etacryn-

säure beim Muskel ein Ödem, das einen 7-fach höheren Proteingehalt der geschädigten Extremität gegenüber der Kontrollextremität aufweist. Bei der Haut liegt die Zunahme bei 67 %. Somit könnte man annehmen, daß die vielfach stärkere Ödementwicklung beim Muskel leichter zu beeinflussen ist als bei der Haut. Dafür spricht, daß sich nach intravenöser Gabe der endotheliale Schutzmechanismus der Flavonoide besonders in der Schädigungsphase zeigt. Während bei den Kontrollversuchen größere Flüssigkeitsmengen bereits nach der Schädigung in der Extremität blieben, war dies bei den Versuchen mit intravenöser Applikation in erheblich geringerem Maße der Fall. Bei den oralen Versuchen ergaben sich die Unterschiede gegenüber den Kontrollen hauptsächlich in der Ödemausbildung nach abgeschlossener Schädigung. Diese Überlegungen sind für alle Pharmaka unserer Versuchsreihe zutreffend.

Böhm (1947), Estler (1971) und Hofmeister (1970) beschrieben die schnelle Absorption, aber auch schnelle Elimination der Flavonoide. Die Halbwertszeit wird mit einer halben bis einer Stunde angegeben. Hofmeister und Lutomski nehmen an, daß Flavonoide nach oraler Applikation gut absorbiert werden. Orzechowski (1962) hält dagegen nur eine geringfügige Aufnahme aus dem Verdauungstrakt für gegeben. Unsere Versuchsergebnisse sprechen eindeutig für eine Absorption bei oraler Applikation. Wenn man die Ergebnisse der oralen und intravenösen Versuche beim Ödemprotein des Muskels gegenüberstellt, so zeigt sich, daß die 10-fach höheren oralen Dosen jedoch schwächer wirkten als die i.v.-Dosen. Damit kann von einer Absorptionsrate bei TMHC nach oraler Gabe ausgegangen werden, die etwa bei 8-10 % liegen dürfte. Die Unwirksamkeit von TMHC nach oraler Gabe in Bezug auf eine Minderung des

Ödems in der Haut, spricht für die schnelle Elimination von TMHC und die leichtere Beeinflussung des vielfach stärkeren Muskelödems. Seidenberger sieht als Grund für die unterschiedliche Wirkungsweise auch eine unterschiedliche Kinetik der Bioflavonoide an. Möglicherweise ist das relativ schlechte Abschneiden der oralen Versuchsreihen auch darin zu sehen, daß 4 Stunden nach Applikation, zum Zeitpunkt der Schädigung, nur ein geringer Teil an TMHC verfügbar war. Chanal et al. (1981) fanden nach oraler Gabe von 10 mg TMHC/kg KG bei der Ratte nach 4 Stunden einen Minimalwert des TMHC im Blut. Ein Maximum ergab sich nach 1-2 Stunden und ein erneutes Ansteigen nach 8 Stunden. Ferner verweisen die Autoren durch ihre Versuche auf den enterohepatischen Kreislauf, den TMHC durchläuft. Diese Annahme könnte die Möglichkeit einer Aufnahme nach oraler Applikation erhärten. Unsere Versuche bestätigten eine Wirksamkeit nach oraler Gabe von TMHC. Eine volle Wirksamkeit der oralen Dosis war hierbei aber nicht ersichtlich.

Die Versuchsreihen mit TMHC zeigen eine ödemprotektive Wirkung nach intravenöser Gabe, mit einem Wirkungsgipfel bei 20 mg/kg KG. Die statistisch signifikante Minderung des Ödemproteins im Muskel spricht für eine Absorption nach oraler Applikation.

HR O-(β -Hydroxyethyl)-rutosid

Nach unseren Untersuchungen ist HR auch beim nichtentzündlichen Ödem wirksam. In verschiedenen Untersuchungen wurde die Wirksamkeit von HR an entzündlichen Ödemen bewiesen. Formanek und Höller (1960) fanden eine Wirkung beim Dextran- und Hyaluronidaseödem nach oraler Gabe von HR. Parmer und Ghosh (1974) weisen auf die Min-

derung beim Carrageeninödem hin. Van Cauwenberge und Franchimont (1967, 1968) beschrieben die Mehrfachwirkung von HR auf verschiedene Ödemauslöser an der Rattenpfote. Dazu gehört die Minderung eines Ödems, das durch Formalin, Dextran, Serotonin oder Bradykinin ausgelöst wurde. Gabor (1978) konnte durch eine Vorbehandlung mit HR eine durch intrakutan verabreichtes Bradykinin erzeugte Permeabilitätssteigerung verhindern.

Einer Ausbildung von wandständigen Thromben bei Hunden kann durch HR zuvorgekommen werden und die Venenwand geschützt werden (Mirkovitch 1972).

Als weiteren Beitrag zur Unspezifität der HR-Wirkung sei an die Untersuchungen von Fritz-Niggli (1978) hingewiesen, der einen protektiven Effekt gegenüber ionisierenden Strahlen nachgewiesen hat. Wie Felix et al. (1983) beschrieben haben, gilt die Unspezifität auch gegenüber der zu schützenden Struktur. Es wird nämlich die glatte Muskulatur sowohl der Blutgefäße, als auch des Darms vor der Schädigung durch Etacrynsäure und Polidocanol geschützt.

Zur Aufklärung der Ursache der antiödematösen Wirkung von HR untersuchte Felix bereits 1972 den Flüssigkeitsaustausch in der terminalen Strombahn an der Katzenextremität. Neben den Lymphgefäßen stehen die Endstrombahnen im Mittelpunkt des Pathomechanismus des venös bedingten Ödems (Klücken 1972). Als Ergebnis zeigte sich bei Felix, daß die Wirkung nicht auf einer Förderung des Lymphabflusses beruht, sondern auf einer Hemmung des Einstroms von Flüssigkeit aus dem Blut in das Gewebe und/oder einer Förderung des Rückstroms aus dem Gewebe in das Blut. Eine Auslösung des Effekts durch Venentonisierung kann dabei ausgeschlossen werden. Nicht auszuschließen ist eine Aktivierung oder Inaktivierung einer Substanz im strömenden Blut. Casley-Smith (1976) hält auch

eine Aktivierung der Tätigkeit der Makrophagen für möglich, so daß das überflüssige Protein abtransportiert werden kann. Wahrscheinlich ist ein direkter Angriff von HR an der terminalen Strombahn anzunehmen.

Ein wesentlicher hämodynamischer Faktor, von dem der Flüssigkeitsaustausch abhängt, ist die Viskosität. Für HR wurde nachgewiesen, daß sie in der Lage sind, die Aggregation von Erythrozyten zu hemmen. So wird unter ihrer Wirkung die Viskosität wieder vermindert (Felix 1974).

Einen weiteren Beitrag zur Aufklärung der HR-Wirkung leisteten Hammersen und Möhring (1968) durch die Untersuchung der Ultrastruktur terminaler Stromwege beim mit HR vorbehandelten Dextran- und Phospholipaseödem im Rattenversuch. Bei Vorbehandlung mit HR (10 mg/ 100 g i.v.) 1 Stunde vor Auslösung des Dextranödems, lassen sich die meisten der sonst regelmäßig auftretenden Endothelveränderungen deutlich reduzieren. Am auffallendsten war der Rückgang der in das Lumen hereinragenden Endothelvorwölbungen, sowie das Verschwinden der zytoplasmatischen Zellveränderungen.

Beim Phospholipaseödem lassen sich durch Vorbehandlung mit HR eine Reihe von Zellveränderungen an Erythrozyten und Endothelien, wie Stechapfelformen, Vakuolisierung und Auftreten größerer endothelialer Lücken, erheblich reduzieren oder aufheben (Hammersen 1971, 1972).

Dank neuester Untersuchungen von Hammersen und Hammersen (1983) ist, wie erwähnt, die nichtentzündliche Natur des Etacrynsäureödems nachgewiesen worden. Bei ihren Untersuchungen stellten Hammersen und Hammersen folgendes fest:

1. Die Zahl der thrombosierten Gefäße sank um 69 % auf 31 %, wenn die Tiere mit HR vorbehandelt waren.
2. Abflachungen des Endothels traten unter HR nur in 31,5 % der Fälle auf, gegenüber 67 % bei den Kontrollen.
3. Die Häufigkeit der Endothelblasen fiel von 78 % (Kontrollen) auf 21 % unter HR ab.

Nach Hammersen sprechen diese Befunde für eine Bindung des HR an Zellmembranen, an denen sie ihre protektive Wirkung ausüben können.

Ritschel und Kaul (1980) fanden neben einer kurzen Plasmahalbwertszeit eine lange Halbwertszeit von ca. 20 Stunden. Versuche an isolierten Organen mit HR zeigten, daß sich HR nach intravenöser Gabe im Gewebe verankern und ödemprotektiv wirken kann (Felix et al. 1983). Diese Befunde stehen im Einklang mit der langen Halbwertszeit des HR. Bei oraler Gabe spielt die lange Halbwertszeit die entscheidende Rolle. Der wirksame Anteil von HR tritt hierbei ins Gewebe über und kann somit ödemprotektiv wirksam werden. Die kurze Plasmahalbwertszeit, die vorwiegend auf einer schnelleren renalen Ausscheidung beruht, ist bei intravenöser Applikation maßgebend für die Wirkung der Substanz. Möglicherweise läßt sich damit auch das Ergebnis erklären, daß 200 mg HR/kg KG per os stärker wirksam sind, als davon 10 %, die der angenommenen Absorptionsrate entsprechen, nämlich 20 mg HR/kg KG bei parenteraler Gabe. Die schwache Wirkung nach i.v.-Applikation muß wohl auf die schnelle renale Ausscheidung zurückgeführt werden.

Bei der oralen Gabe von HR könnte als weitere Möglichkeit in Betracht kommen, daß aufgrund eines "aktiven Transportmechanismus" die Absorptionsquote erheblich mehr

als 10 % beträgt (Felix et al. 1983). Unsere statistisch signifikant besseren Ergebnisse ($p < 0,01$) bei den Versuchen mit oraler Applikation von HR sprechen für diese Annahme.

Weitere Fragen ergeben sich aus dem Vergleich der einmaligen mit der 4 Tage langen Vorbehandlung mit HR. Die Ergebnisse weisen einander vergleichbare Werte der 200 mg/kg KG Dosis mit der 4 Tage langen Gabe von 20 mg HR/kg KG auf. Als Grund dafür könnte man sich vorstellen, daß bei niedrigen Dosen die Absorptionsrate erheblich höher ist. Möglicherweise könnte dies daran liegen, daß der angenommene aktive Transport nur eine begrenzte Aufnahmekapazität besitzt, die mit 200 mg HR/kg KG überschritten ist. Eine stärkere Kumulierung von HR, als angenommen, könnte mit einer wesentlich längeren zweiten Halbwertszeit als 20 Stunden erklärt werden. Weiterhin ist bei geringen Plasmakonzentrationen die renale Ausscheidung pro 24 Stunden zu vernachlässigen. Dafür sprechen auch Untersuchungen von Barrow und Griffiths (1972), wonach die renale Ausscheidung von HR bei Ratten unbedeutend ist.

Die Berichte von Förster (1978), Ritschel und Kaul (1980) und Balant (1983) lassen keinen Zweifel an der Absorption von HR aus dem Gastrointestinaltrakt zu. Dies bekräftigt die Annahme eines enterohepatischen Kreislaufs von HR. Da man die pharmakologische These, wonach gut wasserlösliche und fettunlösliche Substanzen kaum in die Blutbahn aufgenommen werden, nicht anzweifeln darf, bleibt nur übrig anzunehmen, daß hier ein aktiver Transport am Werk ist, der dem HR beim Überwinden der Magen/Darm-Mucosa behilflich ist.

Zu der Frage, warum HR auf die Haut stärker als auf die Muskulatur ödemprotektiv wirkt, bezog Felix (1978) auf-

grund gleicher Feststellung bei Versuchen mit 50 mg HR/kg KG i.v. folgendermaßen Stellung: Gefäßwirkungen des HR sind nicht nachgewiesen worden. Nach Gugler und Dengler (1973) vermögen Flavonoide die Katechol-O-Methyl-Transferase zu hemmen, so daß endogen freigesetzte Katecholamine länger wirken können. Es ist nicht auszuschließen, daß dieser Effekt in der Haut stärker als in der Muskulatur ist. Aufgrund dessen könnte eine Umverteilung des Blutes zugunsten der Muskulatur stattfinden. Als wahrscheinlicher gilt jedoch die Annahme, daß sich die schwächere Wirkung des Ödemmittels in der Haut leichter als in der Muskulatur hemmen läßt. Diese Überlegungen betrafen HR bei intravenöser Applikation. Nach unseren Versuchen sind diese Möglichkeiten ebenfalls auf die orale Gabe von HR auszuweiten.

Bei der 4 Tage langen Vorbehandlung mit 20 mg HR/kg KG fiel noch ein weiterer Befund auf. Vergleicht man die Flüssigkeitsmenge von Kontrollen und 4 Tage langer Vorbehandlung, die nach der Schädigungsphase aus dem Tier wieder zurückkam, stellt man eine erhebliche Mengendifferenz fest. Bei den Kontrollen blieben von den 100 ml Durchspülflüssigkeit, den 50 ml Etacrynsäure und 50 ml NaCl, im Mittel $12,12 \pm 1,78$ ml in der Extremität. Nach 4 Tage langer Vorbehandlung mit HR waren es nur 4 ± 2 ml ($p < 0,04$).

Die Gesamtflüssigkeitsmenge, d.h. die Flüssigkeit, die nach der Schädigung im Bein blieb und die Flüssigkeit, die in den nachfolgenden 45 Minuten filtriert wurde, unterschied sich zwischen $20,45 \pm 1,99$ ml bei den Kontrollen und $9,84 \pm 1,18$ ml bei der 4 Tage-Dosis mit HR ($p = 0,018$). Man könnte daraus folgern, daß sich das HR durch die 4 Tage-Vorbehandlung im Gewebe gut verankert hat und dort ödemprotektiv wirkt, wie bei oraler Gabe

angenommen und bereits erwähnt wurde. Hinzu kommt aber wohl noch ein weiterer Wirkmechanismus. In Bezug auf die zurückfließende Flüssigkeitsmenge nach der Schädigung ergaben sich zwischen den oralen und Kontrollversuchen keine wesentlichen Unterschiede. Hiervon unterscheiden sich nur die intravenösen Versuche, was für einen besseren und schnelleren Gefäßschutz nach intravenöser Applikation spricht.

Die 4 Tage-Vorbehandlung mit HR weist nun zweierlei auf. Zu einem den schnellen Gefäßschutz, wie bei den intravenösen Versuchen, zum anderen die deutliche Gewebeverankerung von HR, wie sie auch bei den oralen Versuchen zu sehen war. Diese Ergebnisse lassen eine "Speicherung" von geringen Mengen an HR möglich erscheinen. Dabei kommt jedoch noch eine mögliche Aktivierung von Enzymen, die gefäßwirksam sind, mit in Betracht.

Unsere Versuche mit HR lassen insbesondere folgende Feststellungen zu:

1. Die orale Wirksamkeit von HR wird durch unsere Versuche bestätigt.
2. Nach oraler Gabe und besonders nach 4-tägiger Gabe wirkte HR in stärkerem Maße ödemprotektiv als nach i.v.-Applikation.
3. Nach einer 4 Tage langen Vorbehandlung mit 20 mg/kg KG wirkte HR etwa gleich stark wie nach einer einmaligen Gabe von 200 mg/kg KG oral, bei einer Vorbehandlungszeit von 4 Stunden.
4. Die Wirkung von HR ist stärker auf die Haut als auf den Muskel.
5. Die Wirksamkeit am nichtentzündlichen Ödem leistet einen weiteren Beitrag zur Unspezifität der HR-Wirkung.

Ruscogenin

Neben Neoruscogenin ist Ruscogenin ein Hauptwirkstoff im Ruscusextrakt. Ruscogenin findet als Teilkomponente seit einigen Jahren in verschiedenen Medikamenten bei der chronischen Veneninsuffizienz seine Anwendung. Klinische und Doppelblindstudien bestätigen den positiven Einfluß auf die Venenschwäche des Menschen (Sentou, Thebault, Hoffmann 1983). Nach Bohr (1949) u.a. beruht die Wirkung von Ruscogenin auf einer Vasokonstriktion in der Endstrombahn des Kreislaufsystems.

Insbesondere aber wurde für die Venen im gesunden und erkrankten Zustand eine starke und anhaltende Kontraktion nachgewiesen. Die vasokonstriktorische Wirkung an der kranken Vene unterschied sich in ihrer Stärke nicht von derjenigen an den gesunden Venen. Moscarella (1953) stellte eine 8-fach stärkere vasokonstriktorische Wirkung an der V.saphena als an der A.femoralis fest.

In unseren Versuchen konnte eine Venentonisierung durch Ruscogenin nicht bestätigt werden. Das Venenvolumen zeigt zwar eine deutliche Tendenz zur Verminderung und damit Tonisierung nach i.v.-Gabe von Ruscogenin, die Ergebnisse sind jedoch nicht signifikant. Allerdings sei betont, daß die vorliegenden Versuche nicht zum Studium der Venentonisierung durchgeführt wurden.

Der Ruscusextrakt mit einem seiner Hauptwirkstoffe, dem Ruscogenin, wirkt auch stark entzündungshemmend. Dies wurde durch die heilende und abschwellende Wirkung von intraperitoneal verabreichtem Ruscusextrakt an dem pathologischen Rattenpfotenödem nachgewiesen (Cahn 1965, Chevillard 1965, Boucard 1967).

Capra (1965) konnte beim Carrageeninödem an der Ratte nach Injektion von 80 mg Ruscogenin/kg KG subplantar eine

Ödemmindern von 65 % erreichen. Dabei wird die Kapillarpermeabilität, gemessen mittels Trypanblau-methode, durch intraperitoneal injiziertes Ruscogenin verringert.

Dem Ruscogenin wurde bei verschiedenen Medikamenten ein zweiter Wirkstoff der Bioflavonoide, z.B. TMHC, zugefügt. Im Hinblick auf unsere Versuchsergebnisse ergibt sich auch beim nichtentzündlichen Ödem eine ödemprotektive Wirkung von Ruscogenin bei oraler und intravenöser Applikation. Dabei waren die Ergebnisse der 5-fach höheren oralen Dosis von 20 mg/kg KG denen der 4 mg/kg KG i.v. vergleichbar. Die Absorptionsrate der oralen Dosis könnte damit nach unseren Versuchen bei 20 % liegen.

Die Dosissteigerung auf 80 mg/kg KG oral ergab nur in Bezug auf den Gehalt an Proteinen im Muskel eine signifikante Ödemmindern, wobei auch hier die Ergebnisse deutlich unter denen der 20 mg/kg KG-Dosis lagen. Ödemprotein und Ödemflüssigkeit in der Haut konnten durch 80 mg/kg KG Ruscogenin nicht beeinflusst werden. Aufgrund der schlechteren Ergebnisse bei 80 mg/kg KG wären folgende Möglichkeiten offen:

Die Speicher für Ruscogenin erschöpfen bei einer Optimaldosis oder der Transportmechanismus. Wie die Versuchsreihen mit TMHC und Clobenosid ergaben, ist eine stärkere Ödemhemmung erreichbar. Die Optimaldosis konnten unsere Versuchsreihen nicht erkennen lassen, der Wirkungsgipfel könnte bei 40 mg/kg KG liegen.

GCP - 52

Diphenyl-methylene 3', 4' -(+)-catechin (Zyma, München, Zy 15051, GCP-52) ist seit kurzem bekannt und erst in den letzten Jahren in einigen Versuchsarbeiten erforscht

worden. Aus der Literatur läßt sich über die antiödematösen Eigenschaften von GCP-52 folgendes zusammenfassen:

GCP-52 vermag bei Ratten Ödeme zu vermindern, die durch D-Galactosamin erzeugt wurden. GCP-52 wurde dabei in Dosen von 25-100 mg/kg KG intraperitoneal verabreicht. In dieser Versuchsreihe wurde die Dosisabhängigkeit der Wirkung deutlich. Die Untersuchungen ergaben ein Wirkungsoptimum bei 40-50 mg/kg KG i.p. Auch beim durch Ovalbumin erzeugten Ödem zeichnete sich ein Wirkungsoptimum bei 40 mg/kg KG i.p. ab. Höhere Dosen von 80 und 100 mg/kg KG zeigten schlechtere, jedoch noch antiödematöse Wirkungen (Zyma, München).

GCP-52 vermindert ferner die mikrovasculäre Durchlässigkeit und zeigt antiödematöse Eigenschaften beim Carageeninödem. Entsprechende Ergebnisse lassen sich ebenfalls bei einem durch Wärmeeinwirkung erzeugten Ödem, nach Heißwasserbad, nachweisen (Gulati, Zyma 1983).

Das Dextranödem konnte bei einer Dosis von 100 mg/kg KG nicht statistisch signifikant gemindert werden, ebenso wenig konnten Histamin- und Bradykinin-Ödeme beeinträchtigt werden. Alle Versuchsreihen wurden an Ratten durchgeführt (Gulati, Zyma 1981)

Unsere Versuchsreihen bestätigen die antiödematösen Eigenschaften von GCP-52. Nach intravenöser Applikation von GCP-52 ergaben sich bei der Ödemflüssigkeit und dem Ödemprotein beim Muskel und beim Ödemprotein der Haut sehr gute Ergebnisse. Die orale Versuchsreihe unterstrich aufgrund der Resultate die ausreichende Absorption von GCP-52. Auffällig war, daß, nach oraler Applikation, GCP-52 das einzige Pharmakon der Versuchsreihe gewesen ist, das neben einer Minderung des Proteins, auch die Ödemflüssigkeit in der Haut statistisch hoch signifikant senken konnte.

Andererseits war die orale Reihe mit GCP-52 auch die einzige, die neben der Ödemflüssigkeit nicht einmal das Ödemprotein im Muskel statistisch signifikant vermindern konnte. GCP-52 scheint nach oraler Applikation schnell ins Gewebe filtrierte zu werden und dort fest zu haften. Dies wurde bereits bei den Flavonoiden aufgezeigt. Die besonders auffallend gute Wirkung auf die Haut kann wohl damit erklärt werden, daß bei GCP-52 für Haut und Muskulatur verschiedene Transportmechanismen aktiviert werden.

Clobenosid

Wie erste Untersuchungen ergaben, besitzt Clobenosid, wie die verwandte Substanz im Glyvenol^R, das bereits klinisch erfolgreich getestet wurde, (Kakande 1981), entzündungshemmende, schmerzlindernde, antiallergische und ödemhemmende Eigenschaften (Jaques 1971). Bei diesen Versuchen wurde das fettlösliche, und deshalb für diese Applikation geeignete, Clobenosid, oral oder intraperitoneal Ratten gegeben und das Rattenpfotenödem untersucht. Clobenosid war unter sehr hohen oralen Dosen (1000 mg/kg KG) oder nach i.p. Applikation beim Galactosamin- und Dextranödem wirksam. Ebenso konnte das Carageeninödem positiv beeinflusst werden. Beim Formalin- und Eiweißödem konnten keine günstigen Einflüsse erkannt werden (Gulati et al. 1980).

Nach Jaques und Schär (1967) hemmt ein Derivat des Glukofuranosids das Dextranödem und entzündliche Reaktionen, die durch Endotoxine und Implantation von Fremdkörpern erzeugt werden. Die Autoren erklärten diese Effekte damit, daß Wirkungen von Bradykinin, anderen Polypeptiden, Histamin und Serotonin gehemmt werden. Damit

erfolgt also eine Hemmung von Substanzen, die beim Mechanismus der Entstehung entzündlicher, allergischer und verwandter Reaktionen eine wichtige Rolle spielen (Felix 1970).

Knoell et al. (1982) haben bei einer Dosis von 10 mg/kg KG Clobenosid i.v. und oral die Blut/Plasmakonzentration und die Ausscheidung des Pharmakons an Hunden untersucht. Dabei stellte sich u.a. heraus, daß nach oraler Applikation ein Maximum der Blut/Plasmakonzentration nach 2-4 Stunden zu erwarten ist. Versuche mit 20 mg/kg KG Clobenosid, oral gegeben, bei einer Vorbehandlungszeit von 4 Stunden, ergaben beim Etacrynsäureödem, nach unserer Methodik, bei Ruppert (1982), eine deutliche Ödemminderung. Die Untersuchungen von Knoell erbrachten eine Bioverfügbarkeit von 60 % bei Clobenosid auf oralem Wege. Damit bot sich zum Vergleich eine Dosis von 10 mg Clobenosid/kg KG bei i.v. Applikation an.

Unsere Ergebnisse sprechen für eine 50 %-ige Absorption von Clobenosid. Die Verminderung des Ödemproteins zeigte jedoch gering bessere Ergebnisse nach oraler Gabe. Im Hinblick auf die Minderung der Flüssigkeitsmenge ergab sich nur nach oraler Applikation beim Muskel ein gutes Resultat. Andererseits hemmten 10 mg Clobenosid/kg KG i.v. das Ödemprotein im Muskel am stärksten.

Im Einklang mit unseren Ergebnissen vermindert Clobenosid die Gefäßdurchlässigkeit und dies unter normalen und pathologischen Gegebenheiten (Gulati 1980). Diese Eigenschaft entfaltet Clobenosid im gut durchbluteten Muskel, womit sich die hervorragenden Ergebnisse erklären lassen. Die Minderung der Gefäßdurchlässigkeit erfolgt aufgrund eines Schutzes des Gefäßendothels.

Die ödemhemmenden Eigenschaften von Clobenosid könnten auch auf einem venetonisierenden Effekt beruhen. Bei

Annoni (1980) ergab sich nur eine schwache und unbeständige Venentonisierung nach Applikation von Clobenosid. Unsere Versuche zeigten bei Bestimmung des Venenvolumens vor und nach Applikation von Clobenosid i.v. keine Änderungen. Damit haben wir keinen Anhalt für eine venentonisierende Eigenschaft des Pharmakons. Wie anderweitige Studien nachwiesen, war nach 100 mg Clobenosid/kg KG i.v. keine Beeinträchtigung des Blutdrucks zu sehen (Gulati 1980). In den eigenen Versuchen senkten 10 mg Clobenosid/kg KG i.v. kurzfristig den Blutdruck. Der Effekt hielt 2-3 Minuten lang an.

Die gute ödemprotektive Eigenschaft von Clobenosid dürfte auf einem gefäßabdichtenden, endothelschützenden Effekt beruhen, da eine Venentonisierung zumindest unwahrscheinlich ist. Die einander vergleichbaren Ergebnisse nach 20 mg/kg KG oral und nach 10 mg/kg KG i.v. sprechen für eine 50 %-ige Absorption von Clobenosid aus dem Magen-Darm-Trakt.

Dosis-Wirkungs-Vergleich zwischen den Ödemprotektiva

Eine vollständige Unterdrückung des Ödems war durch keine Dosis, bei keinem Pharmakon möglich. Es zeichnete sich jedoch bei einigen Pharmaka ein Wirkungsoptimum ab, eine weitere Steigerung der Dosis hatte eine schwächere Wirkung zur Folge. So bei TMHC, das mit 20 mg/kg KG i.v. und Ruscogenin, das mit 10 mg/kg KG oral am stärksten wirkte. Da wir sowohl wasser- als auch fettlösliche Pharmaka verwendet hatten, stellte sich die Frage nach dem Einfluß der Löslichkeit auf den ödemprotektiven Effekt. Einige Versuchsreihen erlaubten einen Vergleich der Pharmaka bezüglich ihrer Dosis-Wirkungs-Beziehung.

TMHC und HR in einer Dosis von 20 mg/kg KG i.v. wirkten bei den wasserlöslichen Substanzen, bei den oralen und i.v. Versuchen unterschiedlich stark. TMHC hat nach i.v. Gabe bei Haut und Muskulatur eine erhebliche ödemprotektive Wirkung, HR dagegen nur beim Proteingehalt der Haut. Damit war HR beim i.v. Dosisvergleich dem TMHC eindeutig unterlegen. Beim Wirkungsvergleich nach oraler Anwendung ergibt sich jedoch die Umkehrung. HR bildete nach 200 mg/kg KG oral wesentlich geringere Ödeme aus als TMHC. Dieses konnte lediglich beim Proteingehalt im Muskel eine Ödemminderung erreichen. Diese Ergebnisse unterstreichen die bessere Wirkungsweise bei HR nach oraler Applikation.

Hinzu kommt, daß HR nach einer 4 Tage-Vorbehandlung mit 20 mg/kg KG oral, mit statistisch signifikanten Ergebnissen auf das Ödemprotein der Haut, die Ödemflüssigkeit und das Ödemprotein des Muskels, bei weitem besser wirkt, als nach einer einmaligen i.v. Dosis von 20 mg/kg KG. Auch die Ergebnisse mit TMHC und GCP-52 bei gleicher i.v. Dosis unterscheiden sich nur gering von denen nach 4 tägiger oraler HR Dosis.

Weiterhin ist auffällig, daß das wasserlösliche Pharmakon TMHC gegenüber dem fettlöslichen GCP-52 bei gleicher Dosierung, intravenös appliziert, nicht schlechter, sondern beim Muskel sogar besser wirkt. Diese Ergebnisse sprechen ebenfalls dafür, daß TMHC von allen Bioflavonoiden am stärksten wirkt. Zu dieser Ansicht kamen Bohr (1949), sowie Voelkel (1953), die den Einfluß einer ganzen Anzahl von Bioflavonoiden auf die Verringerung der Kapillarpermeabilität untersuchten. Sie konnten nachweisen, daß TMHC von allen am wirksamsten war.

In unserer Versuchsreihe konnte TMHC nur von Clobenosid nach 10 mg/kg KG i.v. Dosierung in den Ergebnissen übertroffen werden. Die Resultate nach 10 mg Clobenosid/kg KG entsprachen jedoch denen nach 20 mg TMHC/kg KG i.v.

In einer klinischen Vergleichsuntersuchung konnte Tribenosid gegenüber dem natürlichen Diosmin in der Wirkungseffizienz besser abschneiden (Muschietti 1978). Das synthetische Diosmin übertraf in der gleichen Studie das Tribenosid noch ein wenig.

In einer vergleichenden Untersuchung zur Venentonisierung zwischen Noradrenalin, Äthyl-Adrianol, Dihydroergotamin und Roßkastanienextrakt (Lange und Echt 1972), konnte für die Roßkastanienextrakte kein statistisch signifikanter Effekt einer Venentonisierung gefunden werden. Auch unsere Versuche konnten keine deutliche Venentonisierung erkennen lassen.

Die Gegenüberstellung der Ergebnisse innerhalb der einzelnen Dosierungen weist auf folgende Merkmale hin:

1. Wasserlösliche und fettlösliche Pharmaka können bei gleicher Dosierung einander vergleichbar gute Ergebnisse der Ödemminderung erzielen.
2. Das Ausmaß der Ödemminderung bei Haut und Muskulatur ist bei den einzelnen Substanzen von unterschiedlicher Höhe. Einige Pharmaka mindern das Hautödem, andere das Muskelödem in stärkerem Maße. Diese Tatsache spricht für eine unterschiedliche Kinetik der Substanzen.
3. Wie die Ergebnisse bei TMHC und Ruscogenin zeigen, haben die Bioflavonoide bei einer bestimmten Dosis ein Wirkungsoptimum. Nicht nur das Unter- sondern auch das Überschreiten führten zu einer schwächeren Wirkung.

7. Zusammenfassung

In Chloralosenarkose wurde an einem Hinterlauf der Katze die ödemprotektive Wirkung von wasserlöslichen (TMHC, HR) und fettlöslichen (Ruscogenin, GCP-52, Clobenosid) Substanzen untersucht. Hierzu wurde die Extremität strömungskonstant perfundiert. Dies betraf nicht nur den arteriellen Zu-, sondern auch den venösen Abfluß, wobei der Kollateralkreislauf unterbunden war.

Das Ödem wurde mit Etacrynsäure (Hydromedin^R) erzeugt, in der Annahme, daß Etacrynsäure nicht entzündlich wirkt, um einen Beitrag zum Nachweis der Unspezifität der protektiven Wirkung der Pharmaka zu leisten. Etacrynsäure wurde in die Extremitätengefäße eines Hinterlaufs der Katze appliziert und wirkte 10 Minuten lang ein. Mit Etacrynsäure konnte ein starkes eiweißreiches Ödem erzeugt werden. 45 Minuten nach der Perfusion mit Etacrynsäure wurden im Ödem Eiweiß- und Wassergehalt gemessen. Die ödemprotektiven Substanzen wurden vor der Ödemerzeugung mit Etacrynsäure i.v. oder oral gegeben. HR wurde sowohl akut als auch zusätzlich nach einer 4-tägigen oralen Gabe untersucht.

Alle ödemprotektiven Pharmaka hemmten bei i.v. und oraler Gabe die Ödementwicklung statistisch signifikant, ohne sie vollständig zu unterdrücken. Die Wirkung war dosisabhängig. Wasserlösliche und fettlösliche Pharmaka konnten bei gleicher Dosierung einander vergleichbare Ergebnisse erzielen. Bei TMHC und Ruscogenin wurde die Besonderheit beobachtet, daß nicht nur bei einem Unterschreiten, sondern auch bei einem Überschreiten der optimalen Dosis die ödemprotektive Wirkung wieder schwächer wurde. Nach 4-tägiger peroraler Anwendung mit 10 % der Akutdosis von HR, erreichten wir ein besseres Ergebnis

als mit der hohen Akutdosis. HR wirkte nach oraler Gabe stärker als nach i.v. Applikation. GCP-52 und Clobenosid, zwei in jüngster Zeit synthetisierte Substanzen, ergaben ebenfalls nach i.v. und oraler Applikation eine signifikante ödemprotektive Wirkung. Die Ergebnisse der Versuche bestätigten somit eine Absorption der untersuchten Pharmaka auch nach oraler Gabe.

Weiterhin waren der Zeitpunkt der Ödementwicklung und die Angriffspunkte der ödemprotektiven Wirkung von Interesse. Bei i.v. Applikation wurde das Gefäßendothel durch die ödemprotektiven Pharmaka geschützt, während der Schädigung mit Etacrynsäure wurde nicht sofort Flüssigkeit in das Gewebe abfiltriert.

Bei oraler Gabe der Pharmaka zeigte sich kein Unterschied in der filtrierten Flüssigkeitsmenge während der Schädigung gegenüber den Kontrollen. Die ödemprotektive Wirkung ergab sich im Verlauf der anschließenden Blutperfusion. Bei der 4-tägigen Vorbehandlung mit HR konnte sowohl der sofortige Schutz des Gefäßendothels als auch die Verankerung im Gewebe wie bei den anderen oralen Versuchen gesehen werden.

Als Ursache hierfür werden folgende Mechanismen diskutiert: einerseits die sehr kurze Plasmahalbwertszeit und die lange Gewebahalbwertszeit, andererseits ein aktiver Transport, der bei oraler Anwendung die Aufnahme in die Blutbahn fördert.

8. Literaturverzeichnis

1. Abdel-Sayed, W.A., F.M. Aboud, M.G. Calvelo
Effekt of local cooling on responsiveness of
muscular and cutaneous arteries and veins.
Am. J. Physiol. 219, 1772-1778 (1971)
2. Annoni, F.
Venotonic activity of Clobenoside on the
human saphenous vein.
Interner Bericht, Fa. Zyma, München (1980)
3. Appelgren, L., S. Jacobsem, J. Kjellmer
Estimation of protein concentration of the
capillary filtrate by an isotope technique.
Acta physiol. scand. 66, 353-361 (1966)
4. Balant, L.P.
Klinische Pharmakologie von O-(β -Hydroxyethyl)-
rutosiden.
In: W. Voelter, G. Jung (Hsrg.)
O-(β -Hydroxyethyl) rutoside - neue Ergebnisse
in Experiment und Klinik.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, S. 31-45 (1983)
5. Balis, G.U., R.R. Monroe
The pharmacology of chloralose, review.
Psychopharmacologia 6, 1-30 (1964)
6. Barrow, A., L.A. Griffiths
Metabolism of the hydroxyethylrutosides-
Biliary and urinary excretion of 3',4',5'-
(hydroxyethyl- ^{14}C), 7-tetra-O-(β -hydroxy-
ethyl)-rutoside in rats and monkeys after
parenteral administration.
Xenobiotica 2, 575-586 (1972)

7. Beach, V.L., B.G. Steinetz
Quantitative measurements of evans blue
space in the tissues of the rat: influence
of 5-hydroxytryptamin antagonists and phe-
nelzine on experimental inflammation.
J. Pharmacol. 131, 400 (1961)
8. Bergqvist, D., T. Hallböök
Die Wirkung von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden
auf die Symptomatik bei Patienten mit chro-
nisch-venöser Insuffizienz in einer schwedi-
schen Gemeinde. - Ein Doppelblindversuch.
In: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Ergebnisse
in Experiment und Klinik.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, S. 169-178
(1983)
9. Böhm, K.
Die Flavonoide.
Eine Übersicht über ihre Physiologie, Pharma-
kodynamik und therapeutische Verwendung.
Editio Cantor, Aulendorf/Württ. (1967)
10. Bohr, D.F., B. Mc Ivor, J.F. Rinehart
The effects of various flavone glycosides on
the rate of passage of evans blue through the
damaged capillary wall.
J. Pharmacol. exp. Ther. 97, 243-249 (1949)
11. Boucard, M. et al.
Stéroides pharm. Montpellier 27, 187 (1967)

12. Cahn, J. et al.
Int. Symp. on non-steroidal antiinflammatory drugs (8.-10.9.1964, Mailand).
Amsterdam, S. 293 (1965)
13. Capra, C.
Fitoterapia 43, 99 (1972)
zit. bei Seidenberger
14. Casley-Smith, J.R., N.B. Piller
The pathogenesis of oedemas, and the therapeutic action of coumarin and related compounds.
Folia Angiologica Supp. III, Symp IV, 33-63 (1973)
15. Casley-Smith, J.R.
The actions of the Benzo-Pyrones on the blood-tissue-lymph-system.
Folia Angiologica 24, 7-22 (1976)
16. Chambers, R., W. Zweifach
Physiol. Rev. 27, 436 (1947)
zit. bei Hofmeister
17. Chanal, J.L., H. Cousse, M.T. Sicart, B. Bonnaud, R. Marignan
Absorption and elimination of (¹⁴C)hesperidin-methyl-chalcone in the rat.
European J. of Drug Metabolism and Pharmacokinetics 6, 171-177 (1981)
18. Chevillard, L., M. Ranson, B. Senault
Activité anti-inflammatoire d'extraits de fragon épineux (Ruscus aculeatus L.)
Méd. Pharmacol. exp. 12, 109-114 (1965)

19. Estler, C.-J.
Zur Pharmakologie der Bioflavonoide.
Fortschr. Med. 89, 669-671 (1971)
20. Felix, W.
Strömungsmessung mit Thermistoren.
Arch. exp. Path. Pharm. 244, 254-269 (1962)
21. Felix, W.
Über den Einfluß von HR auf die Durchblutung
bei akuter venöser Stauung.
Fortschr. Med. 86, 927-928 (1968)
22. Felix, W.
Wirkungsmechanismus der internen Therapie
mit Venopharmaka.
Dtsch. Med. J. 21, 456-466 (1970)
23. Felix, W.
Zur pharmakologischen Beeinflussung der
Extremitätenvenen.
In: H.J. Leu, Die Venenwand, S. 112-115, Bern 1971
24. Felix, W., J. Remien, K. Hällfritzsich
Zur Messung von Venenreaktionen im Tierversuch.
Pflügers Arch. 329, 352-359 (1971)
25. Felix, W.
Zum Mechanismus der antiödematösen Wirkung von HR.
Dtsch. Med. J. 23, 403-405 (1972)
26. Felix, W.
Medikamentöse Therapie bei venösen Abfluß-
störungen.
Therapiewoche 32, 3366-3370 (1974)

27. Felix, W.

Zur Wirkung von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden
auf die Ödembildung durch Ethoxysklerol und
Thiopental am Hinterlauf der Katze.

In: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.)

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle
und klinische Ergebnisse.

Springer, Berlin-Heidelberg-New York, S. 93-102
(1978)

28. Felix, W.

Zum Problem "Venemittel".

Med. Welt 31, 813-816 (1980)

29. Felix, W.

Medikamentöse Ödemtherapie bei venösen
Abflußstörungen.

Münch. med. Wschr. 122, 819-820 (1980)

30. Felix, W.

Zur Wirksamkeit von HR bei peroraler Applikation
und zur Spezifität seiner protektiven Wirkung.

Vortrag in Ludwigsburg (1982)

31. Felix, W.

Measurement of venous tonus and of transcapil-
lary fluid exchange during edema formation in
hindleg of cats.

In: Proceedings of the international symposium
Vein and Microcirculation, Athens 1983

International Angiology Suppl. 3, Vol. 2, p.18
(1983)

32. Felix, W.

Anti-oedematous action of phlebodril^R and
its tonicising effect of veins.
In: Proceedings of the international symposium
Vein and Microcirculation, Athens 1983
International Angiology Suppl. 3, Vol. 2, p. 24
(1983)

33. Felix, W., J. Nieberle, G. Schmidt

Wirksamkeit von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden
bei peroraler Applikation und Unspezifität
ihrer protektiven Wirkung.
In: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Ergebnisse
in Experiment und Klinik.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, S. 65-74
(1983)

34. Felix, W., J. Nieberle, G. Schmidt

Protektive Wirkung von Trimethylhesperidin-
chalon und Ruscus aculeatus gegenüber dem
Etacrynsäureödem am Hinterlauf der narkoti-
sierten Katze.
Phlebol. u. Proktol. 12, 209-218 (1983)

35. Felix, W., G. Schmidt, J. Nieberle

Protective effect of Ruscus extract against
injury of vascular endothelium and vascular
smooth muscle caused by ethacrynic acid.
In: Proceedings of the international symposium
Vein and Microcirculation, Athens 1983
International Angiology Suppl. 1 Vol. 3, pp. 77-79
(1984)

36. Förster, H., M. Ziege
Zur intestinalen Resorption von Rutosiden.
Fortschr. Med. 89, 672-675 (1971)
37. Förster, H.
Resorption und Stoffwechsel von Hydroxyethyl-
rutosiden.
In: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.)
O-(ß-Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle
und klinische Ergebnisse.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, S. 43-62
(1978)
38. Forconi, S., M. Guerrini, S. Pecchi, R. Cappelli,
S. Bruni
Effect of hydroxyethylrutoside on impaired
venous function in women taking oral con-
traceptives.
In: Pulvertaft TB, Lyons JS, Wink CAS (eds.)
Hydroxyethylrutosides in vascular disease.
Proceedings of an International Symposium,
Devon, 18th and 19th April 1980.
Royal Society of Medicine, Academic Press,
Grune & Stratton, London-Toronto-Sydney-
New York-San Francisco, pp. 33-34 (1981)
39. Formanek, K., H. Höller
Über den Einfluß von Trioxyläthylrutin auf das
experimentell erzeugte Ödem der Rattenpfote.
Wien. med. Wschr. 110, 697-699 (1960)

40. Fritz-Niggli, H.
Rutoside und strahleninduzierte Tumorregression: Differenzierte Reaktionen maligner und gesunder Zellen.
In: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, S. 169-180 (1978)
41. Gábor, M., A. Antal, Z. Dirner
Effect of Hesperidin-Methyl-Chalcone on Capillary Resistance in the Internal Organs of the Guinea Pig and the Rat.
Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. 34 (3), 221-226 (1968)
42. Gábor, M., A. Antal, K. Lipták, Ö.T. Zoltán, J. Györi, S. Benkő
Capillary Resistance in the Skin of Rats Fed Flavone - Free and Atherogenic Diets, and their Response to Hesperidin-Methyl-Chalcone.
Acta Physiol Acad. Sci. Hung. 38 (1), 71-75 (1970)
43. Gábor, M.
Pharmacologic Effect of Flavonoids on Blood Vessels Symposia Angiologica Santoriana, 4th int. Symp., Fribourg-Nyon 1972
Angiologica 9, 335-374 (223-242) (1972)
44. Gábor, M., G. Blaszc
Effekt von Rutosiden auf das Rattenpfoten-Ödem.
In: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle und klinische Ergebnisse.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, S. 73-78 (1978)

45. Gábor, M.
Anti-Inflammatory Substances of Plant Origin.
In: Handb. Exp. Pharm. 50 II, 698-739 (1979)
46. Gross, F.
Unspezifische Beeinflussung entzündlicher
Reaktionen.
Schweiz. med. Wschr. 80, 697-701 (1950)
47. Gugler, R., H.J. Dengler
Inhibition of Human Liver Catechol-O-Methyl-
transferase by Flavonoids.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 276,
223-233 (1973)
48. Gulati, O. et al.
Pharmacodynamic Studies on Clobenoside in Rats.
Interner Bericht, Zyma SA, Schweiz (1980)
49. Gulati, O. et al.
Pharmacodynamic Studies on Diphenyl-Methy-
lene 3', 4'-(+)-Catechin (GCP-52).
Interner Bericht, Zyma SA, Schweiz (1981)
50. Gulati, O.
Special Report: "Up-to-date Scientific Infor-
mation on Zy 15051".
Interner Bericht, Zyma SA, Schweiz (1983)
51. Hammersen, F., E. Möhring
Der Feinbau der Endstrombahn beim Dextran-
ödem und deren Beeinflussung durch HR.
Fortschr. Med. 86, 925-927 (1968)

52. Hammersen, F.

Zur Ultrastruktur der Wandveränderungen
terminaler Strombahnen bei verschiedenen
experimentellen Ödemen.

In: H.J. Leu, Die Venenwand, 53-84, Bern 1971

53. Hammersen, F., E. Möhring

Zum Feinbau enzymatisch bedingter Endothel-
und Erythrozytenveränderungen (Phospholipase-
Ödem) und deren Beeinflussung durch HR.

Dtsch. med. Wschr. 23, 406-409 (1972)

54. Hammersen, F.

The Fine Structure of Different Types of
Experimental Edemas for Testing the Effect
of Vasoactive Drugs Demonstrated with a
Flavonoid.

Symp. Angiol. Santoriana 4th int. Symp.,
Fribourg-Nyon 1972

Angiologica 9, 326-354 (1972)

55. Hammersen, F.

Zur Ultrastruktur experimenteller Ödeme
und deren Beeinflussung durch O-(β -Hydroxy-
ethyl)-rutoside.

In: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.)

O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle
und klinische Ergebnisse.

Springer, Berlin-Heidelberg-New York, S. 103-120
(1978)

56. Hammersen, F., U. Osterkamp-Baust

Die Schrankenfunktionen des Endothels.

Der Versuch einer kritischen Standortbestimmung.

Phlebol. u. Proktol. 11, 1-8 (1982)

57. Hammersen, F., E. Hammersen
Zur Ultrastruktur des durch Etacrynsäure
oder Polidocanol hervorgerufenen Ödems und
seine Beeinflussung durch O-(β -Hydroxyethyl)-
rutoside.
In: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Ergebnisse
in Experiment und Klinik.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, S. 75-92
(1983)
58. Hauck, G., H. Schröder
Vitalmikroskopische Untersuchungen zur Lokali-
sation der Eiweißkörperpermeabilität an der
Endstrombahn von Warmblütern.
Pflügers Arch. 312, 32-44 (1969)
59. Havsteen, B.
Biochemical Effects of Flavonoids.
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 170, 36-41 (1980)
60. Hennings, G., O. Gulati
Pharmacodynamic Aspects of Z 15028 (Clobeno-
side) and Related Glucofuranosides.
Interner Bericht, Zyma GmbH, München, Nyon (1980)
61. Hoffman, J.
Cyclo 3 in General Practice: a Multicentric
Trial.
In: Proceedings of the international symposium
Vein and Microcirculation, Athens 1983
International Angiology Suppl. 3. Vol. 2, p. 29
(1983)

62. Hofmeister, A.

Vitamin P (Rutin) in Theorie und Praxis.
Med. Welt 21, 502-507 (1970)

63. Jaques, R.

Pharmacological characterisation of the
mode of action of Glyvenol^R.
In: Current aspects of chronic venous insuffi-
ciency: An international symposium, Porto Cervo,
Sardinia, Italy, 5th-7th October 1970
Ed. C. Adams, W. Jochum, R. Kaech, R. Ludwig,
H.D. Philips, published by CIBA-GEIGY Limited,
Basle, p. 120 (1971)

64. Jaques, R., B. Schär

Glyvenol, Repräsentant einer neuartigen pluri-
valenten Substanzklasse mit antiallergischen
und antiinflammatorischen Eigenschaften.
Schweiz. med. Wschr. 97, 553 (1967)

65. Johnson, P.C., K.M. Hanson

Relation between venous pressure and blood
volume in the intestine.
Am. J. Physiol. 204, 31 (1963)

66. Kakande, I.

Glyvenol therapy in varicose veins.
An evaluation of its effectiveness.
East African Med. J. Vol. 58 No. 7, pp. 532-538
(1981)

67. Kappenberg, R.

Experimentelle und klinische Erprobung
von Tissan^R-Veno.
Therapiewoche 39, 3272-3282 (1972)

68. Klemm, J.
Venenwirkung von Daflon^R.
Münch. med. Wschr. 121 (26), 891-892 (1979)
69. Knoell, H.E. et al.
Absorption, Distribution, Metabolism, and
Excretion of ¹⁴C-Clobenoside Following
Intravenous and Oral Dosing.
Report for Zyma GmbH München (1982)
70. Klüken, N.
Die Bedeutung venolymphatischer Interrela-
tionen für die phlebologische Therapie.
Phlebol. u. Proktol. 1, 125-134 (1972)
71. Lange, L., M. Echt
Vergleichende Untersuchungen über venen-
tonisierende Pharmaka.
Fortschr. Med. 90, 1161-1164 (1972)
72. Le Veen, H.H., W.H. Fishman
Combination of Evansblue with plasma protein:
its significance in capillary permeability
studies, blood dye disappearance curves and
its use as a protein tag.
Am. J. Physiol. 151, 26-33 (1947)
73. Lutomski, J., K. Szpunar
Bisheriger Stand der pharmakologischen
Untersuchungen über Bioflavonoide.
Dtsch. Apoth.-Ztg. 112 Nr. 15, 553-559 (1972)

74. Mirkovitch, V., J. Borgeaud, S. Meyer, P. Niebes
Prévention de thrombose expérimentale par
O-(β -hydroxyethyl)-rutosides.
Helv. chir. Acta 39, 379-382 (1972)
75. Moscarella, C.
Contribution A L'Etude Pharmacodynamique
Du Ruscus aculeatus L. (Fragon épineux)
These pour le doctorat de l'université
Toulouse (1953)
76. Muschietti, B.
Comparaison clinique en double insu entre la
diosmine naturelle et synthétique et le tri-
bénoside.
Schweiz. Rundschau Med. (Praxis) 67, 1449-1452
(1978)
77. Nedopil, N., W. Felix, J. Remien
Statische und dynamische Druck-Volumen-Be-
ziehung von Extremitätenvenen der Katze in vivo.
Pflügers Arch. 349, 221-233 (1974)
78. Neumann-Mangoldt, P.
Erfahrungen in der Behandlung venöser Bein-
leiden mit Essaven-Kapseln.
Ergebnisse einer Doppelblind-Studie.
Fortschr. Med. 97, 2117-2120 (1979)
79. Orzechowski, G.
Planta med. 10, 403 (1962
zit. bei Lutomski

80. Parmar, N.S., M.N. Ghosh
Some pharmacological studies of bio-
flavonoids in rats.
Bull. J. clin. Soc. 10, 183-190 (1974)
81. Remien, J.
Aktive und passive Einflüsse vasoaktiver
Pharmaka auf Venen und den transkapillären
Flüssigkeitsaustausch.
Habilitationsschrift, München (1974)
82. Remien, J., S. Silber, W. Felix
Venentonisierung durch Roßkastanienextrakte.
Phlebol. u. Proktol, 3, 35-42 (1974)
83. Ring, K.
Modulation of membrane permeability by
different flavonoids.
Abstr. 10th Int. Congr. Biochem., Hamburg (1976)
No. 05-5-321
84. Ring, K. et al.
Membranen als Zielsysteme von Flavonoiden:
Der Einfluß von Quercetin und Quercetinde-
rivaten auf die Permeabilität künstlicher
Lecithinmembranen.
In: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - neue Ergebnisse
in Experiment und Klinik.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, S. 55-64
(1983)

85. Ritschel, W.A., S. Kaul
Cumulative Urinary Excretion of 3,4,7-Tri-
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside Upon Peroral
Administration in Man.
Sci. Pharm. 49, 57-61 (1981)
86. Ruppert, R.
Über die Wirkung von Acethyl-O- β -Hydroxyäthyl-
rutosid (Acethyl-HR) und Clobenosid, bei per-
oraler Applikation auf den transkapillären Flüs-
sigkeitsaustausch in der hinteren Extremität
der Katze.
Dissertationsarbeit, München (1982)
87. Sannie, C., H. Lapin
V. Ruscogénine, 22- α -spirostène-3 β -19-
diol, nouvelle sapogénine stérolique de Ruscus
aculeatus L.
Bull. Soc. Chim. Fr. 1552-1555 (1955)
88. Schmidt, H.
Kurze Einführung in die Chemie der Flavonoide
unter besonderer Berücksichtigung der O-(β -
Hydroxyethyl)-rutoside.
In: W. Voelter, G. Jung (Hrsg.)
O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside - experimentelle
und klinische Ergebnisse.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, S. 1-9
(1978)
89. Seidenberger, A.V., I. Müller, H.J.H. Heindl
Ein neues Venentherapeutikum.
Therapiewoche 24, 867-881 (1974)

90. Sentou, Y.
Double blind study of Cyclo 3^R activity in man.
In: Proceedings of the international symposium
Vein and Microcirculation, Athens 1983
International Angiology, Suppl. 3, Vol. 2, pp. 29-30
(1983)
91. Szent-Györgyi, A.
J. Physiol. Chem. 255, 126 (1983)
zit. bei Seidenberger
92. Tarayre, J.P., H. Lauressergues
Advantages of a Combination of Proteolytic
Enzymes, Flavonoids and Ascorbic Acid in Com-
parison with Non-Steroid Anti-inflammatory
Agents.
Arzeim. Forsch. 22 (I), 1144-1149 (1977)
93. Thebault, J.J., C. Blatrix
Cyclo 3 clinical pharmacology.
In: Proceedings of the international symposium
Vein and Microcirculation, Athens 1983
International Angiology, Suppl. 3, Vol. 2, pp. 26-27
(1983)
94. Van Cauwenberge, H., P. Franchimont
Action du Z 6000 (Trihydroxyethylrutoside) sur
divers tests d'inflammation expérimentale
réalisés chez le rat.
Arch. int. Pharmacodyn. 170, 74-80 (1967)
95. Van Cauwenberge, H., P. Franchimont
Untersuchung der antiphlogistischen Eigen-
schaften von Trihydroxyäthylrutosid.
Zbl. Phlebol. 7, 110-121 (1968)

96. Van Cauwenberge, H., J. Lecomte, A. Cession-Fossion
Sur quelques activités pharmacologiques de la
(+)-catechine chez le rat.
C.R. Soc. Biol. (Paris) 165, 1195-1198 (1971)
97. Voelkel, A.
Ärztl. Forsch. 7, I/228 (1953)
98. Weidmann, G.
Stationäre und ambulante medikamentöse Therapie
phlebologischer Erkrankungen.
Med. Welt 26 (21), 1046-1050 (1975)
99. Winder, C.V., J. Wax, V. Burr, M. Been, C.E. Rosière
A study of pharmacological influences on
ultraviolet erythema in guinea pigs.
Arch. int. Pharmacodyn. 116, 261-292 (1958)
100. Zyma GmbH
Basic information on Zy 15051.
Interner Bericht (1982)
101. Zyma GmbH München
Suppression of Ovalbumin-induced Rat Paw
Oedema by the Antiphlogistic Compound GCP-52.
Interner Bericht
102. Zyma SA Nyon, Schweiz
Zy 15028 Investigators reference manual.
Interner Bericht

Recht herzlich bedanke ich mich bei Herrn Professor Dr. med. Wolfgang Felix für die freundliche Überlassung des Themas und die Möglichkeit in seinem Labor die Experimente durchführen zu dürfen. Mein ganz besonderer Dank gebührt ihm aber für seine stete Betreuung und Beratung bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit.

Frau Steigerwald und Fräulein Schubert danke ich sehr für ihre Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Versuche und Anfertigung der Abbildungen.

Lebenslauf

Gabriel Heinrich Maria Schmidt

- | | |
|----------------|---|
| 28.5.1954 | geboren in Laurahütte/Oberschlesien
als Sohn des Textilkaufmanns Heinrich
Schmidt und seiner Ehefrau Rita geb.
Szandar |
| 18.3.1958 | Aussiedlung der Familie in die
Bundesrepublik Deutschland,
Gilching/Lkr. Starnberg |
| 1960-1961 | Volksschule Gilching |
| 1961-1964 | Volksschule München |
| 1964-1973 | Humanistisches Ludwigsgymnasium
München (Abitur) |
| 1973-1977 | Studium der Rechtswissenschaften an
der Ludwig-Maximilians-Universität
München |
| 24.8.1978 | Heirat mit Gabriele Förg |
| 1978-1983 | Studium der Humanmedizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität
München |
| 1980-1983 | Experimenteller Teil der Disserta-
tionsarbeit |
| 21.11.1983 | Approbation |
| Seit März 1984 | Assistenzarzt an der Anästhesie-
abteilung des Kreiskrankenhauses
Ebersberg |

